

Série A, 364

N^o d'ordre
1030

THÈSES

PRÉSENTÉES

A LA FACULTÉ DES SCIENCES DE PARIS

POUR OBTENIR

LE GRADE DE DOCTEUR ÈS SCIENCES NATURELLES

PAR

Albert RICHAUD

DOCTEUR EN MÉDECINE

PHARMACIEN EN CHEF DE L'HOSPICE D'IVRY

1^{re} THÈSE. — RECHERCHES PHYSIOLOGIQUES SUR L'INULASE ET SUR
L'INULINE.

2^e THÈSE. — PROPOSITIONS DONNÉES PAR LA FACULTÉ.

Soutenues le 27 Juin 1900, devant la Commission d'examen.

MM. DASTRE, président.

MUNIER-CHALMAS, } examinateurs.
MATRUCHOT, }

PARIS

GEORGES CARRÉ ET C. NAUD, EDITEURS

3, RUE RACINE, 3

1900

Série A, 364

N° d'ordre
1030

THÈSES

PRÉSENTÉES

A LA FACULTÉ DES SCIENCES DE PARIS

POUR OBTENIR

LE GRADE DE DOCTEUR ÈS SCIENCES NATURELLES

PAR

Albert RICHAUD

DOCTEUR EN MÉDECINE
PHARMACIEN EN CHEF DE L'HOSPICE D'IVRY

1^{re} THÈSE. — RECHERCHES PHYSIOLOGIQUES SUR L'INULASE ET SUR
L'INULINE.

2^e THÈSE. — PROPOSITIONS DONNÉES PAR LA FACULTÉ.

Soutenues le *27* Juin 1900, devant la Commission d'examen.

MM. DASTRE, président.
MUNIER-CHALMAS, } examinateurs.
MATRUCHOT, }



PARIS

GEORGES CARRÉ ET C. NAUD, EDITEURS

3, RUE RACINE, 3

1900

FACULTÉ DES SCIENCES DE L'UNIVERSITÉ DE PARIS

— 3 —

MM.

Doyen. DARBOUX, *professeur.* Géométrie supérieure.
Professeur honoraire. HERMITE.

	DE LACAZE DUTHIERS.	Zoologie, Anatomie, Physiol. comparée.
	TROOST.	Chimie.
	LIPPMANN.	Physique.
	HAUTEFEUILLE.	Minéralogie.
	BOUTY.	Physique.
	APPELL.	Mécanique rationnelle.
	DUCLAUX.	Chimie biologique.
	BOUSSINESQ.	Physique mathématique et Calcul des probabilités.
	PICARD.	Analyse supérieure et Algèbre supérieure.
	POINCARÉ.	Astronomie mathématique et Mécanique céleste.
<i>Professeurs.</i>	YVES DELAGE.	Zoologie, Anatomie, Physiol. comparée.
	GASTON BONNIER.	Botanique.
	DASTRE.	Physiologie.
	DITTE.	Chimie.
	MUNIER-CHALMAS.	Géologie.
	GIARD.	Zoologie, Évolution des êtres organisés.
	WOLF.	Astronomie physique.
	KÖNIGS.	Mécanique physique et expérimentale.
	VÉLAIN.	Géographie physique.
	GOURSAT.	Calcul différentiel et Calcul intégral.
	CHATIN.	Histologie.
	PELLAT.	Physique.
	HALLER.	Chimie organique.
	PUISEUX.	Mécanique et Astronomie.
	RIBAN.	Chimie analytique.
	RAFFY.	Analyse et Mécanique.
<i>Professeurs adjoints.</i>	LEDUC.	Physique.
	MATRUCHOT.	Botanique.
	HAUG.	Géologie.
	HADAMARD.	Calcul différentiel et Calcul intégral.

Secrétaire. FOUSSEREAU.

A
MONSIEUR LE PROFESSEUR LÉON GUIGNARD

MEMBRE DE L'INSTITUT ET DE L'ACADÉMIE DE MÉDECINE

Hommage de reconnaissance et de respectueux dévouement

INTRODUCTION

Parmi les matières de réserve élaborées par les végétaux pour leur servir ultérieurement d'aliment et qui sont aussi utilisées pour l'alimentation de l'homme et des animaux, la plus répandue, la plus importante est assurément l'amidon.

La physiologie générale de cet hydrate de carbone est aujourd'hui bien connue. Au point de vue de son origine, on ne connaît pas à vrai dire, dans leur intimité, les différentes phases du processus biogénétique qui lui donne naissance ; mais on sait qu'il n'apparaît que chez des plantes pourvues de chlorophylle, celle-ci devant dès lors être considérée comme un intermédiaire nécessaire de sa production. Au point de vue de son rôle dans la plante, on sait que cet amidon est surtout utilisé par celle-ci aux deux périodes de sa vie végétative où s'exagèrent en quelque sorte les phénomènes de nutrition, la période de la germination et celle de la floraison. On sait de plus que cet amidon, sous sa forme actuelle, c'est-à-dire tel qu'on le rencontre dans l'appareil de réserve où la plante l'a accumulé, n'est pas assimilable par cette

dernière et qu'avant de servir à alimenter les cellules de cette plante ou à en édifier de nouvelles, il doit subir l'action d'une substance particulière, d'une diastase qui l'hydrate et le transforme finalement en produits solubles et assimilables. On sait enfin que lorsque cet amidon pénètre dans le tube digestif d'un animal, il ne peut devenir « aliment » qu'à la condition d'éprouver les mêmes transformations par lesquelles il passe dans la plante qui germe, transformations qu'on sait encore, dans les deux cas, s'accomplir sous l'influence des mêmes agents.

Parmi les autres matières de réserve élaborées par les végétaux et jouant un rôle capital dans la nutrition générale des êtres vivants, il faut encore placer le saccharose. Pas plus que l'amidon, cet hydrate de carbone n'est directement assimilable et, ici encore, on retrouve chez le végétal ou chez l'animal qui le consomme l'intervention d'un ferment, d'une diastase dont le rôle est aussi de le transformer en substances plus simples et assimilables.

Ces deux hydrates de carbone, amidon et sucre de canne, sont, à beaucoup près, les plus répandues et les plus importantes des matières de réserve élaborées par les végétaux et c'est à eux aussi qu'appartient le rôle prépondérant dans la nutrition hydrocarbonée des animaux.

Toutefois, on en connaît beaucoup d'autres, et, à propos de l'utilisation de chacun d'eux par les êtres vivants, on retrouve presque toujours cette même intervention d'un agent fermentaire particulier destiné à cette

simplification de la molécule que nous avons signalée en parlant du sucre et de l'amidon et qui semble être comme la condition nécessaire pour que certaines molécules physiologiquement inertes puissent devenir actives.

On sait depuis longtemps que dans certaines familles végétales, notamment chez les composées, on rencontre à la place de l'amidon un hydrate de carbone particulier, l'inuline. Pendant longtemps on a cru que cette inuline était l'apanage de la seule famille des synanthérées. Mais, voici que des travaux accomplis dans ces dernières années ont montré que cet hydrate de carbone est beaucoup plus répandu qu'on ne l'avait cru jusqu'ici.

C'est ainsi que Krauss (1) l'a rencontrée dans la famille des campanulacées, dans celles des lobéliacées, des goodénaciées, etc. Plus récemment, Chevastelon (2) l'a trouvée dans plusieurs monocotylédones. De plus, de même qu'il paraît exister plusieurs espèces d'amidon, on connaît aussi dès maintenant, depuis les travaux de Tanret et de Chêvastelon, plusieurs espèces d'inuline.

On avait reconnu depuis longtemps déjà que l'inuline, sous l'influence des agents d'hydratation (acides minéraux étendus bouillants), donnait du lévulose, sucre assimilable comme le glucose, et il était dès lors admis que l'inuline, au point de vue physiologique, remplissait le même rôle que l'amidon, l'une et l'autre, au moment de la germination, se transformant en un sucre directement assimilable. Toutefois, l'agent physiologique de la

(1) KRAUSS. *Botan. Zeitung*, 25 mai 1877.

(2) CHEVASTELON. *Thèse pour le Doctorat ès Sciences*. Paris, 1894.

saccharification de l'inuline était resté inconnu jusque dans ces dernières années. Ce n'est en effet qu'en 1888 que Green (1) a réussi à le mettre en évidence dans les tubercules de topinambour en germination.

Cet agent est encore un ferment soluble et Green l'a désigné sous le nom d'inulase. Or, ainsi que nous venons de le voir, l'inuline est beaucoup plus répandue chez les végétaux qu'on ne l'avait cru tout d'abord.

D'autre part, parmi les végétaux qui contiennent de l'inuline, un assez grand nombre concourent à la nourriture de l'homme et des animaux.

On sait par exemple que dans certaines régions de la France les topinambours constituent, au moins pendant une certaine période de l'année, la base principale de l'alimentation du bétail. Voici donc que le rôle de l'inuline dans les phénomènes de nutrition nous apparaît plus général, plus important qu'on ne l'avait d'abord soupçonné et qu'un intérêt plus grand s'attache dès lors à la connaissance exacte du mécanisme de ces phénomènes.

Comme on en pourra juger d'après le résumé que j'en donnerai plus loin, les connaissances que nous possédions sur ce sujet avant le présent travail se réduisaient à bien peu de chose. On ne savait rien notamment touchant le mécanisme de l'assimilation de l'inuline chez les animaux. Fallait-il admettre que l'inuline qui n'est pas directement assimilable par les plantes pouvait l'être par les animaux ? C'était improbable. Dès lors, par quel

(1) J.-R. GREEN. *Annals of Botany*, t. I, 1888.

mécanisme le devenait-elle. Y avait-il chez les animaux comme chez les végétaux un ferment hydrolisant particulier pour cet hydrate de carbone ? Si ce ferment existait, où était son siège ? La sécrétion en était-elle normale et continue comme celle de l'invertine et de l'amylase, ou bien l'inulase apparaissait-elle seulement sous l'influence d'un régime inulacé ?

Ce dernier point était particulièrement intéressant à étudier. Il touche en effet à un des problèmes les plus importants de la physiologie générale, celui de savoir dans quelle mesure les phénomènes de sécrétion diastasi-que sont liés aux conditions d'alimentation de la cellule, ou plus généralement, aux conditions d'alimentation d'un organisme. Je ne veux pas pour l'instant insister sur ce point et entrer dans l'exposé et la discussion de faits sur lesquels j'aurai à revenir plus tard. Je veux seulement indiquer ici que cette question d'une relation de cause à effet entre la nature de l'aliment et la marche des sécrétions diastasi-ques n'étant pas close, il y a grand intérêt à apporter dans cet ordre d'idées le plus possible de faits nouveaux.

J'ai pensé que la spécificité de l'inulase une fois bien établie, nulle autre diastase ne pourrait se mieux prêter à l'étude de quelques-uns de ces faits et que, à la condition d'être bien observés, les résultats qu'on obtiendrait dans cette voie, quels qu'ils soient, constitueraient une intéressante contribution à l'étude d'une des questions les plus curieuses de la biologie générale.

Le présent travail comprendra trois chapitres :

Dans un *premier chapitre*, après un exposé des recherches faites sur l'inulase avant le présent travail,

j'établirai la spécificité de l'inulase et je ferai connaître les résultats auxquels m'a conduit l'étude systématique de ce ferment.

Dans un *deuxième chapitre* j'étudierai le mécanisme de l'assimilation de l'inuline chez les animaux. Ce chapitre comprendra trois paragraphes. Dans un premier paragraphe j'étudierai la destinée de l'inuline lorsqu'elle est introduite directement dans le sang; dans un deuxième paragraphe j'étudierai l'action de quelques acides étendus sur l'inuline; dans un dernier paragraphe j'exposerai le résultat des expériences que j'ai entreprises chez un certain nombre d'animaux dans le but de rechercher l'inulase dans les différentes parties du tube digestif, soit que ces animaux aient été laissés à leur régime ordinaire, soit qu'ils aient été soumis pendant un temps plus ou moins long à un régime inulacé.

Enfin dans un *dernier chapitre* j'étudierai l'influence du régime inulacé sur la nature ou les proportions des hydrates de carbone (sucre et glycogène) qu'on rencontre soit dans le sang, soit dans le foie, soit dans les muscles.

Bien que ces recherches, par plus d'un point, sortent un peu du cadre ordinaire de celles qui sont poursuivies dans le laboratoire de M. le P^r GUIGNARD, je demande à mon savant maître la permission d'inscrire son nom en tête de ce travail. Je ne saurais oublier que c'est dans son enseignement que j'ai puisé le goût des sciences biologiques et dans son laboratoire que j'ai appris à aimer les recherches expérimentales. Qu'il me permette de lui dire ici ma profonde reconnaissance pour la grande bienveillance qu'il m'a toujours témoignée.

CHAPITRE PREMIER

§ I. — HISTORIQUE

J'ai dit plus haut que l'agent physiologique de la saccharification de l'inuline était resté inconnu jusqu'à ces dernières années et que ce n'est qu'en 1888 qu'un physiologiste anglais, J. R. Green (1), avait réussi à le mettre en évidence dans les tubercules de topinambour en germination. Quelques années plus tard (1893), M. Bourquelot (2), à la suite du travail de Green et guidé aussi par des observations personnelles antérieures, montra que l'*aspergillus niger* sécrète une diastase capable de saccharifier l'inuline.

Green, pour mettre en évidence dans les tubercules de topinambour la présence d'un ferment soluble capable de saccharifier l'inuline, faisait germer ces tubercules et, quand les jeunes plantes qui en provenaient avaient atteint une hauteur de six pouces au-dessus du sol, il hachait finement les tubercules et les traitait par de la glycérine. Après 24 heures il filtrait et soumettait l'extrait glyciné à la dialyse jusqu'à ce que le liquide resté dans le dialyseur ne réduisit plus la liqueur de Fehling.

(1) *Loc. cit.*

(2) BOURQUELOT. *J. Ph. et Chim.*, 5^e série, t. XXVIII, p. 5, 1893.

En faisant agir l'extrait glycérimé sur des solutions d'inuline à 1 pour 100, Green put observer la saccharification graduelle de ce corps. Ce même extrait glycérimé soumis à l'ébullition devenait incapable de dédoubler l'inuline; c'était donc un ferment soluble.

Une fois admise la nature diastasique de l'agent naturel de la saccharification de l'inuline, Green en étudia quelques propriétés essentielles. Il montra d'abord que ce ferment est différent de la diastase ordinaire (amylase).

En effet, en faisant agir l'extrait glycérimé sur une solution d'empois d'amidon, il n'observa pas l'hydratation de ce corps. Il vit de plus que la salive, qui se montre si active à l'égard de l'amidon, a peu ou pas d'action sur l'inuline. Il était donc établi que l'inulase est différente de l'amylase. Green étudia aussi l'influence de la réaction du milieu sur l'activité du ferment. Comme la salive, dit-il, il « travaille » mieux dans un milieu neutre. Pourtant, la présence d'une très légère trace d'acide ne lui nuit pas, et cette très légère acidité favoriserait plutôt son action. Les acides plus forts que l'acide chlorhydrique lui sont préjudiciables et le contact pendant une heure dans un milieu dont l'acidité égale 0,2 pour 100 HCl le détruit tout à fait.

Les alcalis ont aussi une action pernicieuse et la puissance du ferment ne résiste pas au contact pendant une heure avec une solution à 1,5 pour 100 de carbonate de soude. En ce qui concerne l'influence de la température sur l'activité du ferment, Green constate simplement qu'à 40° son énergie est beaucoup plus grande qu'à la température ordinaire.

Enfin, Green chercha à déterminer l'époque où le ferment fait son apparition dans le tubercule. Il ne le rencontra pas dans des tubercules complètement développés, mais qui n'avaient encore subi aucun procès de germination.

Imbu de la théorie des proenzymes, il se demanda si dans ces mêmes tubercules il n'existait pas une prodias-tase, un zymogène qui, au moment de la germination, donnerait naissance au ferment vrai. Étudiant à ce point de vue l'action de la chaleur et celle des acides, il observa que des tubercules complètement développés, coupés en gros fragments et soumis pendant 24 heures à l'action de la chaleur (35°), donnaient ensuite, quand ils étaient traités par la glycérine, un extrait contenant de l'inulase. L'action des acides sur la transformation du zymogène en inulase vraie fut au contraire négative.

Tels sont, brièvement mais assez complètement résumés, les points principaux des recherches de Green sur le ferment qui nous occupe.

Quelques mots maintenant du travail de M. Bourquelot que j'ai également signalé. Dans ce travail, M. Bourquelot montre que le liquide de culture de l'*aspergillus niger* sur le liquide de Raulin contient un ferment analogue sinon identique à celui de Green. On peut l'obtenir mélangé à d'autres ferments solubles en suivant le procédé qu'il a décrit dans la note consacrée à la sécrétion de la tréhalase par le même champignon (1).

(1) E. BOURQUELOT. Sur un ferment soluble nouveau dédoublant le tréhalose en glucose. *J. Ph. et Ch.* [5], XXVII, p. 497, 1893.

« En raison, dit M. Bourquelot, de l'impossibilité où l'on est actuellement de séparer ces ferments les uns des autres, on comprend que la question de savoir si l'on avait affaire à un ferment spécifique ne pouvait être abordée qu'indirectement, comme lorsqu'il s'agissait de la tréhalase. C'est ainsi que l'invertine et la diastase n'exerçant aucune action sur l'inuline, il était permis *a priori* d'affirmer que le dédoublement de ce composé n'était pas déterminé par l'un de ces deux ferments.

D'autre part, en étudiant l'action de la chaleur sur une solution aqueuse des ferments mélangés que produit l'*aspergillus*, j'ai constaté que cette solution pouvait être portée à 64° sans rien perdre de son activité à l'égard de l'inuline. Or nous savons que la tréhalase est détruite à cette température ; donc le ferment de l'inuline diffère de cette dernière.

« Mais il ne pas m'a été possible de trouver jusqu'ici de caractère permettant de la distinguer de la maltase. Quoiqu'il en soit, il n'y a pas d'inconvénient à la considérer, pour l'étude de ses propriétés, comme un ferment particulier et à lui conserver le nom d'inulase. »

En somme, comme on peut le voir, même après la publication de ces deux mémoires intéressants, l'histoire de l'inulase était loin d'être complète. Il restait à faire la démonstration rigoureuse de la spécificité de ce ferment, à faire ou à préciser l'étude de l'influence des divers agents physiques ou chimiques, soit sur le ferment lui-même, soit sur la marche du phénomène qu'il détermine ; enfin, à faire toute entière l'histoire de l'inulase considérée quant à son rôle dans les phénomènes de la diges-

tion de l'inuline chez les animaux. Ce sont les résultats auxquels m'a conduit l'étude de ces différents points que je vais maintenant exposer.

§ II. — SPÉCIFICITÉ DE L'INULASE

Quand on croit avoir découvert une substance présentant les propriétés fondamentales des diastases, capable notamment de dédoubler un corps donné en l'hydratant, et cela, dans les conditions ordinaires des actions diastatiques, il importe d'abord de se demander si cette diastase est bien un ferment spécifique.

Pour cela il faut rechercher :

1° Si le corps dont on a observé l'hydratation sous l'influence de cette diastase est bien le seul sur lequel elle puisse agir.

2° Si parmi les autres diastases déjà connues, il n'en est pas qui puisse opérer l'hydratation du même corps.

De l'ensemble des faits actuellement connus, la science moderne a dégagé une doctrine qui conclut à l'individualité des diverses diastases. Il ne faut pourtant pas perdre de vue que certains faits particuliers sont là pour nous apprendre que quelques diastases sont capables de décomposer plusieurs corps. On sait par exemple que l'émulsine est le ferment hydrolisant d'un très grand nombre de glucosides.

Mais ici, il est vrai, intervient une notion nouvelle introduite dans la science par les beaux travaux de Fischer ; c'est la notion des relations stéréochimiques de

la diastase et des corps qu'elle hydrolise. La conception de Fischer est à coup sûr très séduisante pour l'esprit et quelques faits semblent d'ailleurs la justifier; toutefois ces faits ne sont pas encore assez nombreux pour qu'on puisse déjà ériger en théorie l'hypothèse de l'illustre chimiste.

Quoi qu'il en soit, le problème de la recherche de la spécificité d'une diastase s'impose toujours au début d'une étude sur cette diastase. Voyons donc ce qu'il faut penser de la spécificité de l'inulase et comment on peut parvenir à l'affirmer.

Si l'on se rapporte au travail de Green que j'ai analysé plus haut, on voit que ce savant a nettement établi :

1° Que son extrait diastasifère n'exerçait aucune action sur l'amidon ;

2° Que la salive n'agissait pas non plus sur l'inuline.

Voici donc un premier point acquis : l'inulase et l'amylase sont deux diastases différentes.

De son côté, M. Bourquelot a montré que l'inulase différait de la tréhalase. Mais, dans le mélange de diastases que produit l'*Aspergillus* sur le liquide de Raulin on trouve encore de la maltase et de l'émulsine. M. Bourquelot n'a pas pu trouver de caractère lui permettant de dissocier sûrement l'action de l'inulase de celle de la maltase. Quant à la possibilité d'une action commune de l'inulase et de l'émulsine, il n'en est fait mention nulle part. Il semble, au premier abord, que cette hypothèse d'une action commune possible de l'inulase et de l'émulsine soit bien improbable. Il ne faut pourtant pas

oublier que Fischer a montré que si la sucrase ne dédoublait pas l'amygdaline suivant l'équation classique, elle était pourtant capable d'en détacher la molécule de glucose.

Il ne faut pas perdre de vue non plus que Merck a montré que l'émulsine pouvait hydroliser, non pas seulement des glucosides comme l'amygdaline, la salicine, la coniférine, etc., mais aussi des corps comme la β méthylglucose et des sucres comme la lactose.

Je me suis donc proposé d'essayer de différencier l'inulase de la maltase d'une part et de l'émulsine d'autre part. Voici comment j'ai pu établir que ces ferments étaient bien différents :

1° **L'inulase et la maltase sont des ferments différents.** — Pour démontrer que ces deux ferments ne sont pas identiques, il fallait :

A. — Montrer que l'inulase n'agit pas sur le maltose ;

B. — Montrer que la maltase n'agit pas sur l'inuline.

a) Pour la première démonstration je ne pouvais pas songer à utiliser le mélange diastasifère fourni par le liquide de Raulin; je me suis donc adressé à l'extrait diastasifère reconnu actif sur l'inuline) obtenu au moyen de tubercules de topinambours, et j'ai fait agir cet extrait sur le maltose. Voici d'ailleurs le détail de l'expérience :

Solution de maltose à 2 p. 100 (faite dans de l'eau	
thymolée).....	50 ^{cc}
Extrait glycérimé.....	20

Le mélange est porté à l'étuve à 38° pendant douze heures.

Au bout de ce temps le pouvoir réducteur du mélange n'avait pas varié.

b) La seconde démonstration présentait plus de difficultés.

La maltase est en effet assez mal connue. On l'a rencontrée comme on sait chez les animaux.

Méring en 1881 a constaté sa présence dans le pancréas du chien; Bourquelot, en 1883, dans le pancréas et l'intestin grêle du lapin en digestion; Brown et Héron, en 1886, dans le suc pancréatique et l'intestin grêle du porc. Enfin, en 1889, Dubourg a montré que le sang et l'urine contiennent aussi une diastase amenant au terme dextrose l'hydrolisation de l'amidon.

Chez les végétaux, la maltase est également très répandue. Elle se rencontre comme l'a montré M. Bourquelot, dans le liquide de culture de l'*aspergillus*; on l'a également trouvée dans l'extrait de certaines levures, associée à la sucrase. Toutefois, toutes les levures n'en produisent pas. Par contre, Beyerling a découvert une levure, le « *Schizosaccharomyces octosporus* » qui produit de la maltase et pas de sucrase. Cette levure serait donc la source de choix pour l'étude de la maltase. Malheureusement elle ne se cultive que très difficilement et on se trouve réduit à s'adresser à des sources plus impures.

Pour ma démonstration je me suis adressé à la portion médiane de l'intestin grêle du lapin en digestion. Cette source de maltase est en effet abondante, comme l'ont montré les expériences de M. Bourquelot. Dans une des expériences (1) dont je parle, ce savant a vu que cette

(1) E. BOURQUELOT. Recherches sur les prop. physiologiques du maltose. *Journal de l'anat. et de la physiol.*, année 1886, p 183.

portion moyenne, en 18 heures, avait dédoublé 70 pour 100 du maltose mis en expérience. J'ai d'ailleurs répété avec les animaux sur lesquels j'ai opéré les expériences de M. Bourquelot et j'ai obtenu des résultats du même ordre. Or, comme on le verra dans un des chapitres suivants, on ne trouve nulle part, dans le tube digestif de cet animal, de diastase capable de saccharifier l'inuline. Donc, la maltase et l'inulase ne sont pas un seul et même ferment

2° L'inulase et l'émulsine sont des ferments différents. — Voici les expériences qui le démontrent :

a. — On fait une solution d'amygdaline à 1 pour 100; à 50 centimètres cubes de cette solution on ajoute 20 centimètres cubes d'extrait glycérimé de topinambour (reconnu actif sur l'inuline). On porte à l'étuve à 36°. Au bout de 24 heures l'amygdaline n'a subi aucun dédoublement.

b. — A 50 centimètres cubes d'une solution d'inuline à 1 pour 100, on ajoute 0^{gr},10 d'émulsine (reconnue active sur l'amygdaline). On porte à l'étuve à 36°. Au bout de 24 heures l'inuline est demeurée inaltérée.

Voici donc démontré que l'inulase diffère à la fois et de l'émulsine et de toutes les diastases susceptibles de réagir sur les hydrates de carbone autres que l'inuline. Nous pourrions désormais poursuivre avec plus de certitude l'étude spéciale de l'inulase et aborder utilement ensuite les différents problèmes que nous nous sommes proposé de résoudre.

§ III. — ÉTUDE SYSTÉMATIQUE DE L'INULASE

L'étude systématique d'une diastase est en réalité un problème extrêmement compliqué. Il est inexact en effet, comme on le fait quelquefois, de confondre toujours en une seule les actions parfois très différentes que les divers agents physiques ou chimiques peuvent exercer soit sur le ferment lui-même, soit sur la marche, sur l'allure du phénomène qu'il détermine. Du fait par exemple que, sous l'influence d'un agent donné et dans des conditions déterminées, on a constaté l'arrêt d'un phénomène de fermentation, il ne faut pas conclure que l'activité biologique du ferment est définitivement atteinte. Il peut arriver en effet que, dans les conditions observées, l'activité du ferment soit seulement suspendue, devenue latente, et qu'elle soit prête à se manifester de nouveau quand on aura fait disparaître la cause perturbatrice intervenue.

Cela veut dire en somme que dans l'étude qui va nous occuper maintenant il y aura ou il pourra y avoir à préciser les conditions où un agent donné tue le ferment et les conditions où cet agent paralyse ou suspend simplement son action.

Pour les expériences qui vont suivre je me suis presque constamment servi comme source d'inulase du liquide complexe obtenu en laissant séjourner sur de l'eau distillée des cultures d'*aspergillus niger*. Étant donnée la spécificité désormais bien établie de l'inulase, il n'y avait

aucun inconvénient à se servir de cette source de diastase, la seule d'ailleurs qu'on puisse avoir rapidement et en tout temps à sa disposition.

Dans ces expériences j'ai apprécié la puissance de l'inulase par la quantité de sucre réducteur formé dans un temps donné dans une solution d'inuline prise à un titre toujours le même.

Influence de la température. — J'ai étudié l'influence de la température :

A. — Sur le ferment considéré seul.

B. — Sur la marche de la fermentation de l'inuline.

A. Influence des basses températures sur la vitalité du ferment. — On prélève 400 centimètres cubes de liquide de macération d'*aspergillus* et on les répartit par moitié dans deux flacons de même capacité que l'on bouche ensuite soigneusement. L'un de ces flacons est laissé dans le laboratoire (température = 12°-16°), l'autre est placé dans la glace fondante. Toutes les 24 heures on prélève dans chacun des deux flacons 25 centimètres cubes de liquide diastasifère que l'on fait agir pendant 24 heures à 36°-38°, sur 50 centimètres cubes d'une solution d'inuline à 1 pour 100. Le tableau suivant traduit les résultats obtenus.

LIQUIDE DIASTASIFÈRE laissé à la température ordinaire	QUANTITÉ P. 100 d'inuline transformée	LIQUIDE DIASTASIFÈRE laissé à 0°	QUANTITÉ P. 100 d'inuline transformée
—	—	—	—
Après 24 heures	39,1	Après 24 heures	39,1
48	39,1	48	39,1
72	39,1	72	39,1
96	39,1	96	39,1
120	39,1	120	39,1

Ces chiffres montrent qu'une solution d'inulase peut être conservée pendant plusieurs jours sans altération, soit à la température ordinaire, soit à 0°.

J'ai également étudié l'influence de températures beaucoup plus basses sur l'inulase. Voici le détail d'une expérience faite dans ce but.

Deux échantillons (de 25 centimètres cubes) d'un même liquide de macération d'*aspergillus* sont enfermés dans deux matras. L'un est abandonné à la température du laboratoire, l'autre est plongé dans un mélange réfrigérant obtenu au moyen de 1 partie de sel marin et de 3 parties de glace pilée.

La température de ce mélange, qu'on a eu soin de renouveler plusieurs fois au cours de l'expérience, a été constamment comprise entre 16° et 20° au-dessous de 0. L'échantillon y a été maintenu pendant deux heures. Au bout de ce temps l'échantillon congelé a été retiré et abandonné à la température du laboratoire jusqu'à ce qu'il soit complètement liquéfié. A chacun des échantillons, on a alors ajouté 50 centimètres cubes de solution d'inuline à 1 pour 100 et 0^{gr},75 de fluorure de sodium. Après 18 heures de séjour à l'étuve on a mesuré la quantité d'inuline transformée pour 100 et on a trouvé :

Échantillon laissé à température ordinaire. . .	30,4
Échantillon refroidi de — 16° à — 20°. . .	28,8

on note donc une perte de 6 pour 100 d'énergie chimique dans l'échantillon refroidi.

Action de la chaleur sur les solutions d'inulase. — J'ai d'abord cherché à déterminer la température à laquelle

il fallait porter une solution d'inulase pour lui enlever complètement son pouvoir diastasifère.

Au cours de ses recherches sur les ferments solubles sécrétés par l'aspergillus, M. Bourquelot avait déjà observé que le liquide de macération de ce champignon pouvait être porté à 64°, sans perdre de son activité à l'égard de l'inuline. J'ai cherché à préciser davantage l'action de la température sur ce ferment et, pour cela, je me suis servi de la méthode indiquée par cet auteur à propos de son travail sur la tréhalase. « Des prises de 25 centimètres cubes de solution fermentaire ont été introduites dans des tubes à essais portant des numéros (de 1 à 15 dans mes expériences). Ces tubes ont été placés en compagnie d'un tube témoin contenant 25 centimètres cubes d'eau et un thermomètre dans un vase de bohème renfermant de l'eau et plongé lui-même dans l'eau d'un B.-M. Le B.-M. était chauffé de telle sorte que la température de l'eau s'élevait de 1° par minute. Les tubes ont été retirés successivement à partir du moment où le thermomètre du tube témoin a accusé 44° et cela dans l'ordre suivant :

Tube n° 1 à 44°	Tube n° 6 à 54°	Tube n° 11 à 64°
2 à 46°	7 à 56°	12 à 66°
3 à 48°	8 à 58°	13 à 68°
4 à 50°	9 à 60°	14 à 70°
5 à 52°	10 à 62°	15 à 72°

Après refroidissement on a mélangé le contenu de chaque tube avec 50 centimètres cubes d'une solution d'inuline à 1 pour 100 et 0^{gr},75 de fluorure de sodium. Au bout de 24 heures on a mesuré la quantité d'inuline transformée dans chacun des mélanges.

Enfin, une expérience témoin, faite avec une solution de ferment non chauffée servait de point de repère pour calculer l'influence de la chaleur sur le ferment.

Comme chaque dosage demande environ 6 ou 7 minutes, on avait soin d'espacer d'autant la mise à l'étuve de chaque ballon. Grâce à cette précaution, les dosages étaient aussi comparatifs que possible. Voici les résultats observés :

		QUANTITÉ D'INULINE TRANSFORMÉE P. 100
Expérience témoin.		46,97
Solution chauffée à 44°.		46,97
— 46°.		46,97
— 48°.		46,97
— 50°.		44,95
— 52°.		44,95
— 54°.		41,65
— 56°.		41,65
— 58°.		39,08
— 60°.		33,21
— 62°.		33,21
— 64°.		28,20
— 66°.		14,65
— 68°.		traces
— 70°.		traces
— 72°.		0

Ces expériences montrent que ce n'est qu'à partir de 50° que l'action de la chaleur sur l'inulase commence à se faire sentir. De 50° à 60°, cette action n'est pas en somme très considérable ; elle est très sensible de 60° à 64°. A 64° le ferment a déjà beaucoup perdu de son énergie chimique ; à 68° cette énergie chimique est presque nulle ; enfin à 70° elle disparaît entièrement.

B. — **Influence de la température sur la marche de la fermentation.** — Après avoir étudié l'influence de la température sur le ferment proprement dit, il convenait d'étudier l'influence de la température sur la marche du phénomène fermentatif qu'il détermine, de rechercher en un mot à partir de quelle température ce phénomène peut se manifester, comment il varie d'intensité quand la température croît à partir de la limite inférieure et enfin de déterminer la température optima de cette action.

J'ai d'abord cherché à voir si la saccharification de l'inuline par l'inulase pouvait se faire à la température de la glace fondante et dans quelle mesure elle se faisait.

Pour cela on prépare 6 ballons contenant chacun le mélange suivant :

Solution d'inuline à 1 p. 100.. . . .	50 ^{cc}
Liquide de macération d'aspergillus.	25
Fluorure de sodium.	0,75

Chaque ballon est placé dans un récipient contenant de la glace pilée et le tout est porté dans une cuve à glace.

Après 24 heures, on examine le contenu d'un des ballons ; après 48 heures le contenu d'un second ballons etc, etc.

On trouve ainsi :

				QUANTITÉ D'INULINE TRANSFORMÉE P. 100
1 ^{er} ballon	24 heures de séjour à 0°.		traces	
2 ^e —	48 —	—	9,04	
3 —	72 —	—	12,80	
4 —	96 —	—	15,40	
5 —	120 —	—	20,93	
6 —	148 —	—	24,60	
7 —	172 —	—	27,80	

Le pouvoir saccharifiant du liquide de macération d'*aspergillus* dont on s'est servi dans ces expériences, avait été mesuré préalablement pour la température de 36°-38° et on avait trouvé qu'en 24 heures il transformait en lévulose 41 pour 100 de l'inuline mise en expérience. Ces expériences montrent donc que déjà à la température de la glace fondante, l'inulase peut exercer son pouvoir diastasique. Il semble en outre que cette température de 0° ne fasse que retarder la rapidité d'action du ferment sans l'atteindre dans son intégrité. Il suffit en effet de consulter les chiffres mis en regard de la colonne des temps pour constater que la saccharification de l'inuline augmente assez régulièrement et qu'elle tend vers le chiffre normal, c'est-à-dire vers le chiffre qui mesure la puissance diastasique du ferment à une température voisine de l'optima.

Ces résultats confirment ceux que nous avons fait connaître plus haut et relatifs à l'étude de l'action prolongée d'une température de 0° sur la vitalité du ferment. On se souvient en effet que nous avons observé que, même après plusieurs jours de séjour à cette température, le ferment n'avait nullement perdu de sa puissance et que, ramené graduellement à la température ordinaire, il se comportait absolument comme s'il avait été laissé pendant le même temps à cette température ordinaire.

Mesure de la puissance du ferment à des températures comprises entre 0° et 48°. — L'action de l'inulase sur l'inuline se faisant déjà sentir à la température de 0°, il était évident *a priori* qu'elle devait se manifester à la température ordinaire (12 à 15°). Il était néan-

moins intéressant de mesurer le pouvoir saccharifiant du ferment à cette température.

On a pris encore ici comme terme de comparaison le pouvoir saccharifiant du ferment à la température de 36°-38° et on a vu que, tandis qu'à cette température le ferment dédoublait en 24 heures 41 pour 100 de l'inuline mise en expérience il n'en dédoublait dans le même temps à la température de 12° à 15° que 20 pour 100 environ.

J'ai effectué la même mesure pour différentes températures. Il me suffira d'indiquer ici les chiffres trouvés dans les différentes expériences.

TEMPÉRATURE DE L'ÉTUVE	QUANTITÉ P. 100 D'INULINE TRANSFORMÉE EN 24 HEURES
24-26°	25,50
30-32°	30,50
36-38°	41,10
42-44°	43,20
46-48°	41

Ces chiffres montrent que le dédoublement de l'inuline par l'inulase se fait surtout bien à partir de 30°, qu'elle se fait encore très bien entre 46 et 48°, mais qu'elle se fait le mieux possible entre 42°-44°. Nous pouvons prendre le chiffre intermédiaire et considérer la température de 43° comme la température optima.

Influence de la filtration sur le pouvoir saccharifiant de l'inulase. — Les différentes diastases paraissent ne pas se comporter toujours d'une façon identique vis-à-vis des différentes substances filtrantes; il y a donc lieu de rechercher pour chacune d'elle dans quelle mesure son

activité est atteinte par son passage à travers un filtre donné.

J'ai examiné dans ce but ce que devenait l'inulase du liquide de macération de l'aspergillus quand ce liquide avait traversé la bougie de Chamberland. Voici les résultats obtenus :

EXPÉRIENCE I

Solution d'inuline à 1 p. 100.	50 ^{cc}
Liquide de macération d'aspergillus (non filtré)..	25
Fluorure de sodium.	0,75
Température 36°-38°. Durée de l'action 24 heures. Quantité p. 100 d'inuline transformée 41,10	

EXPÉRIENCE II

Solution d'inuline à 1 p. 100.	50 ^{cc}
Liquide de macération d'aspergillus (filtré à la bougie)..	25
Fluorure de sodium.	0,75
Température 36°-38°. Durée de l'action 24 heures. Quantité p. 100 d'inuline transformée 34,9	

La solution fermentaire en passant à travers une bougie Chamberland a donc perdu environ 15 pour 100 de son énergie chimique. Parmi les ferments contenus dans le liquide de macération d'aspergillus, l'inulase n'est d'ailleurs pas la seule diastase dont l'activité chimique diminue dans une certaine mesure par le passage à travers la bougie Chamberland. Tout récemment Hérissey (1) a observé le même fait pour l'émulsine.

Ce sont là des faits qui sont intéressants à consi-

(1) HÉRISSEY. Recherches sur l'émulsine. *Thèse*, Paris, 1899.

dérer, soit au point de vue de la constitution physico-chimique des diastases, soit au point de vue de la théorie générale des actions diastasiques. On admet en effet que l'un des caractères généraux essentiels des diastases c'est la valeur très petite du rapport $\frac{p}{P}$ qui existe entre la quantité p de la diastase et le poids P de substance que cette diastase peut transformer. Si cette conception était absolument vraie, on ne comprendrait pas que, dès l'instant où un liquide diastasifère filtré est encore capable d'agir sur une substance donnée, le pouvoir fermentescible de ce liquide filtré soit plus faible que le pouvoir fermentescible du liquide non filtré. En vérité, si ce caractère général des diastases est vrai théoriquement, il n'est pas absolument vrai pratiquement et dès lors on ne doit pas s'étonner de voir la filtration à travers une substance donnée diminuer dans une certaine mesure le pouvoir diastasifère d'un ferment. D'ailleurs le problème ne pourrait être abordé rigoureusement qu'à la condition d'avoir à sa disposition des diastases pures. Or on ne connaît pas les diastases à l'état de pureté. Nous admettons qu'une diastase est d'autant plus pure qu'elle se montre plus active sous le même poids. Mais, comme le fait remarquer M. Duclaux, y a-t-il un millième de diastase pure dans le mélange le plus actif obtenu ? y en a-t-il 50 pour 100 ou même davantage ? C'est un point sur lequel on ne sait rien.

Influence de différents agents chimiques sur l'action de l'inulase. — « Lorsqu'on ajoute à un mélange d'une diastase et de la matière sensible à son action un sel

minéral ou plus généralement un corps quelconque, ce corps peut jouer un rôle dans l'action en modifiant l'un des corps réagissant, soit la diastase, soit la matière que la diastase transforme. Il peut aussi intervenir par lui-même, sans modifier d'une façon sensible les corps en présence (1) ».

Je me suis proposé de faire à ce point de vue l'étude de l'influence exercée par un certain nombre de substances sur la saccharification de l'inuline sous l'influence de l'inulase. Il est utile en effet de connaître pour chaque diastase l'action accélératrice ou retardatrice des différentes substances. Cette action n'a rien en effet du caractère spécifique qu'on lui attribue quelquefois.

Action du chloroforme. — Pour déterminer l'influence du chloroforme sur la marche de la saccharification de l'inuline par l'inulase, on fait les expériences suivantes :

A. Solution d'inuline à 1 p. 100.	50 ^{cc}
Liquide de macération d'aspergillus.	25

On porte à l'étuve à 36-38°.

Après douze heures on trouve que 46,5 pour 100 d'inuline ont été transformés.

B. Solution d'inuline à 1 p. 100.	50 ^{cc}
Liquide de macération d'aspergillus.	25
Chloroforme.	Un excès

Après 12 heures de séjour à l'étuve (36°-38°) on filtre sur un filtre mouillé et on exprime en sucre le pouvoir

(1) DUCLAUX. Traité de microbiologie, t. II, p. 371.

réducteur de la liqueur. On trouve ainsi que 75 pour 100 de l'inuline auraient été transformés.

Mais, comme on le sait, le chloroforme réduit la liqueur de Fehling et il y a à savoir par conséquent quelle part lui revient dans le pouvoir réducteur total. Pour cela il faut faire l'expérience suivante :

C. Eau.	50 ^{cc}
Liquide de macération d'aspergillus.	25
Chloroforme.	Un excès

Après 12 heures de séjour à l'étuve (36°-38°) on filtre sur un filtre mouillé. On mesure le pouvoir réducteur de la solution et on trouve que ce pouvoir réducteur correspond à celui d'une solution qui contiendrait 0,1425 de glucose. Or 0,1425 de glucose provenant d'une saccharification d'inuline indiqueraient dans l'espèce une transformation correspondant à 28,5 pour 100 d'inuline.

Dans l'expérience B ce n'est donc pas 75 pour 100 d'inuline qui ont été réellement saccharifiés, mais bien 75 — 28,5, soit 46,5.

Nous pouvons donc conclure que dans les conditions que nous venons de rapporter, le chloroforme n'entrave ni n'accélère l'action de la diastase sur l'inuline.

Il n'est pas inutile de remarquer en passant que nous trouvons dans ce fait un caractère différentiel nouveau entre l'inulase et la maltase.

Il résulte en effet des expériences de Lintner et Krober que le chloroforme gêne notablement l'action de la maltase.

Action du fluorure de sodium. — Le fluorure de sodium à 1 pour 100 a été également indiqué comme un

des réactifs permettant de distinguer les unes des autres les fermentations par ferments solubles et les fermentations par ferments organisés (1).

On verra d'après les expériences suivantes que s'il est vrai que le fluorure de sodium à 1 pour 100 ne s'oppose pas à l'action diastasique de l'inulase, elle la gêne cependant dans une faible mesure.

A. Solution d'inuline à 1 p. 100.	50 ^{cc}
Liquide de macération d' <i>aspergillus</i>	25

On porte à l'étuve 36°-38°. Après 18 heures de séjour à cette température on trouve que 56,25 pour 100 d'inuline ont été transformés.

B. Solution d'inuline à 1 p. 100.	50 ^{cc}
Liquide de macération d' <i>aspergillus</i>	25
Fluorure de sodium.	0,75

Après 18 heure de séjour à l'étuve (36°-38°) on trouve que 48,3 pour 100 seulement ont été transformés. Ainsi la florure de sodium à 1 pour 100 modifie notablement l'action de l'inulase.

Toutefois il n'y a pas d'inconvénients à l'employer comme antiseptique dans les expériences où on se propose, non pas de mesurer le pouvoir saccharifiant absolu d'une solution d'inulase, mais seulement de comparer le pouvoir diastasifère de deux ou plusieurs solutions prises dans des conditions déterminées.

Acide thymique. — L'acide thymique en solution sa-

(1) ARTHUS et PAGÈS. Fermentations vitales et fermentations chimiques. *C. R.*, CXV, 1892, p. 839.

turée n'entrave dans aucune mesure l'action de l'inulase sur l'inuline.

Acide borique. — L'acide borique gêne singulièrement l'action de l'inulase.

Dans des expériences dont il n'y aurait aucun intérêt à rapporter les détails, j'ai vu que tandis qu'une solution d'inulase non additionnée d'acide avait saccharifié en 18 heures 56,25 pour 100 de l'inuline mise en présence, la même solution d'inulase agissant en présence de 3 pour 100 d'acide borique n'avait saccharifié dans le même temps que 24,75 pour 100 d'inuline.

Des doses plus faibles d'acide borique sont encore capables de gêner l'action de l'inulase. C'est ainsi que la même solution d'inulase mise en présence de 1 pour 100 d'acide borique n'a transformé en 18 heures que 41,65 pour 100 d'inuline. Enfin avec une dose de 1 pour 1000 d'acide borique la quantité d'inuline transformée n'a été que de 52,11 pour 100.

Borate de soude. — Le borate de soude à 2 pour 1000 est un véritable paralysant de l'inulase : même après un séjour de 24 heures à l'étuve à 36°-38° on n'observe la formation que de traces de lévulose.

Carbonate de soude. — Le carbonate de soude à 2 pour 1000 s'oppose d'une façon complète à l'action de l'inulase. Dans cette expérience il était intéressant de rechercher si la puissance du ferment avait simplement été entravée par l'alcalinité de la liqueur ou si au contraire le ferment avait été tué ; autrement dit si on le verrait reprendre son action après neutralisation de la liqueur. L'expérience montre que même après neutralisation de la liqueur l'ac-

tion du ferment ne se manifeste pas. Le carbonate de soude n'a donc pas seulement suspendu la puissance diastasique de l'inulase, elle a détruit le ferment.

Cyanure de potassium. — Le cyanure de potassium à la dose de 0^{gr},10 pour 1000 empêche également l'action diastasique de l'inulase.

Arséniate de soude. — L'arséniate de soude est aussi un paralysant actif de l'inulase. La même solution de ferment qui, employée seule, était capable de transformer en 18 heures 56,25 pour 100 d'inuline, ne transformait plus dans le même temps que 14,61 pour 100 d'inuline lorsqu'on la mettait en présence de 1 pour 1000 d'arséniate de soude.

Formol. — De faibles quantités de formol paralysent également l'action de l'inulase.

Acide carbonique. — L'acide carbonique n'exerce aucune influence accélératrice ou retardatrice sur l'action de l'inulase sur l'inuline. Pour étudier l'influence de cet acide, voici comment j'ai opéré :

On prend deux ballons de 100 centimètres cubes dont on étire le col à la lampe. Dans l'un des ballons (A) on introduit le mélange suivant :

Solution d'inuline à 1 p. 100.	50 ^{cc}
Liquide de macération d'aspergillus.	25

On ferme le col à la lampe.

Dans le second ballon (B) on introduit le même mélange ; mais, avant de fermer le col à la lampe on fait passer dans la solution pendant deux heures au moyen d'un tube effilé un courant d'acide carbonique. On peut admettre que, dans ces conditions, la solution est saturée

d'acide carbonique et que l'air du ballon a été remplacé par ce gaz. On retire alors avec précaution le tube effilé et on ferme le col à la lampe. On porte les ballons à l'étuve (36°-38°).

Au bout de 36 heures on les retire, on casse la pointe effilée, on dose le sucre présent dans chaque solution et on constate que la quantité d'inuline transformée est exactement la même dans chacun des ballons.

CHAPITRE II

Recherches sur le mécanisme de l'assimilation de l'inuline chez les animaux.

Dans le chapitre précédent, après avoir montré que l'inulase était bien réellement un ferment spécifique, j'ai longuement étudié l'influence d'un certain nombre d'agents physiques ou chimiques sur ce ferment et précisé par cela même les conditions essentielles de son action.

Nous avons vu en outre que, non seulement ce ferment apparaissait au moment de la germination chez les végétaux renfermant de l'inuline comme matière de réserve, mais encore qu'on retrouvait l'inulase dans le mélange diastasifère complexe sécrété par l'*Aspergillus niger*, et cela, quelque soit l'hydrate de carbone mis à la disposition de cet organisme inférieur.

Ces faits nous montrent que, en ce qui concerne les végétaux, la molécule d'inuline n'est pas directement assimilable et qu'elle ne peut le devenir qu'à la condition de subir un dédoublement l'amenant au terme glucose (lévulose), dédoublement qui s'accomplit ici sous l'influence d'une diastase.

Une question se pose maintenant, celle de savoir si, chez les animaux, la digestion de l'inuline, je veux dire

son absorption et son assimilation sont soumises aux mêmes lois que chez les végétaux, ou si au contraire, chez les animaux, ces phénomènes s'accomplissent en vertu d'un processus différent de celui que les végétaux mettent en œuvre.

D'une part en effet, l'inuline étant en somme un hydrate de carbone soluble et dialysable, on peut concevoir qu'elle soit directement absorbée.

D'autre part, la saccharification de l'inuline peut s'accomplir indépendamment de l'intervention d'une diastase ; elle peut avoir lieu comme je le montrerai plus loin sous l'influence de solutions très diluées de certains acides. A vrai dire, les connaissances que nous possédons actuellement sur la biologie générale des êtres vivants nous conduisent à admettre la doctrine de l'unité des actions nutritives chez tous ces êtres, qu'il s'agisse d'un organisme élémentaire, monocellulaire ou qu'il s'agisse d'un organisme infiniment complexe. Jusqu'ici en effet on a retrouvé dans le règne végétal toutes les diastases qu'on a rencontrées dans le règne animal. Par contre on connaît dans le règne végétal des diastases qu'on n'a pas encore signalées dans le règne animal. L'inulase est précisément de ce nombre.

Pour ne parler ici que de ce ferment, il était intéressant de rechercher si, soit normalement, soit dans certaines conditions, sous certaines influences notamment on ne l'y rencontrerait pas.

C'est à l'étude des différents problèmes que je viens de poser que ce chapitre sera consacré.

Il comprendra trois paragraphes :

Dans un premier paragraphe j'étudierai ce que devient l'inuline lorsqu'elle est introduite directement dans le sang.

Dans un deuxième paragraphe j'étudierai l'action d'un certain nombre d'acides étendus sur l'inuline.

Enfin dans un dernier paragraphe j'exposerai le résultat des expériences que j'ai entreprises chez un certain nombre d'animaux dans le but de rechercher l'inulase dans les différentes parties du tube digestif.

INJECTIONS D'INULINE DANS LE SANG

Le premier point à élucider quand on s'occupe de rechercher le mécanisme de l'assimilation d'un hydrate de carbone donné, c'est celui de savoir si cet hydrate de carbone est ou n'est pas directement assimilable ; autrement dit, si, sous sa forme actuelle il peut être directement utilisé par l'organisme. La question de l'assimilation des hydrates de carbone par l'organisme a été vraiment posée par Claude Bernard (1). Claude Bernard établit tout d'abord que le sucre de canne introduit dans le sang s'élimine complètement par le rein et passe dans les urines tandis que dans les mêmes conditions les glucoses disparaissent : le sucre de canne, conclut-il, n'est donc pas un aliment, et, pour qu'il devienne aliment, il est nécessaire qu'il subisse un dédoublement préalable en glycoses.

(1) Claude BERNARD. Leçons sur le diabète, p. 253.

Depuis cette époque MM. Dastre et Bourquelot(1), Hofmeister (2), Carl Voit (3), etc., se sont occupés de l'assimilation des différentes espèces de sucres.

De tous ces travaux il en résulte bien en somme que les glucoses sont les sucres de choix pour l'organisme, mais que néanmoins d'autres sucres tels que le maltose par exemple sont manifestement assimilables puisqu'après qu'on les a injectés dans le sang on ne les retrouve pas intégralement dans l'urine.

Magendi et Claude Bernard avaient également observé que le sérum du sang saccharifie l'amidon (4). Claude Bernard (5) ayant injecté du glycogène ou de l'amidon soluble de Béchamp dans le sang de lapins, avait constaté que l'urine de ces animaux contenait une petite quantité de sucre. Néanmoins, pour ce qui est de ces hydrates de carbone à poids moléculaire élevé, insolubles ou peu solubles, peu ou pas dialysables, il est certain que leur assimilation par l'organisme exige leur transformation préalable en molécules plus simples solubles et dialysables.

L'étude de l'inuline méritait d'être faite à ce point de vue. Ce corps est bien, à vrai dire, un hydrate de

(1) DASTRE et BOURQUELOT. Sur l'assimilation du maltose. *C. R.*, t. XCVIII, n° 26, 1884.

(2) HOFMEISTER. Ueber die assimilationsgrenze der Zuckerarten. *Arch. f. exp. Path. und Pharmak.*, t. XXV, p. 240, 1889.

(3) CARL VOIT. Ueber die Glycogenbildung nach Aufnatsme Verschiedener Zuckerarten. *Zeitsch. f. Biol.*, t. XXVIII, p. 240, 1889.

(4) CL. BERNARD. Leçons de Phys. exp., t. II, p. 163. Liq. de l'org., t. I, p. 498.

(5) CL. BERNARD. Leçons sur le diabète, p. 539.

carbone à poids moléculaire plus élevé que celui des sucres, et qui, par ce caractère se rapproche des matières amylacées proprement dites; qui s'en rapproche encore par les caractères tirés de son^e dédoublement sous l'influence des acides étendus, qui s'en rapproche enfin par son rôle bien connu chez les végétaux où on l'a rencontré. Mais, d'un autre côté, l'inuline s'éloigne de l'amidon par ce caractère qu'elle est vraiment soluble et dialysable. Rien ne s'oppose donc, *a priori*, à admettre qu'elle puisse passer directement dans le sang et servir d'aliment. Il y avait donc lieu de rechercher ce qu'elle devient lorsqu'elle est introduite directement dans le sang. A vrai dire, pour une semblable recherche l'inuline ordinaire, je veux dire celle qu'on rencontre chez les synanthérées, présente un inconvénient. Telle qu'on la rencontre dans les végétaux, cette substance est très soluble puisqu'il faut employer des artifices de préparation pour l'amener à présenter une forme concrète dans le suc cellulaire. Mais dès que cette substance a été précipitée, sa solubilité dans l'eau devient en somme assez faible. On ne peut guère obtenir dans un état de stabilité suffisante que des solutions à 2 pour 100. On est donc obligé d'injecter aux animaux un volume relativement considérable de liquide pour introduire dans leur organisme une quantité un peu notable d'inuline.

Quoi qu'il en soit, voici les résultats fournis par deux expériences.

I^{re} expérience. — Chez un gros lapin (3^{kg},885), à jeun depuis 36 heures, on injecte dans la veine marginale de l'oreille 20 centimètres cubes d'une solution d'inuline à 2 pour 100, soit 0^{gr},40

d'inuline. L'injection est faite à 3 heures de l'après-midi. À 9 heures du soir, le lapin n'a pas encore uriné. Le lendemain matin, on peut recueillir 300 centimètres cubes d'urine trouble et présentant une réaction légèrement alcaline.

Cette urine ne réduit pas franchement la liqueur de Fehling, toutefois elle donne avec ce réactif un précipité vert sale. Cette réaction est d'ailleurs pour ainsi dire normale avec l'urine de lapin et il est assez difficile de dire à quel principe particulier elle doit être rapportée. Quoi qu'il en soit, l'urine déféquée par le sous-acétate de plomb donne un liquide incolore qu'on débarrasse de l'excès de plomb au moyen du carbonate de soude. La liqueur filtrée et débarrassée du carbonate de plomb ne réduit plus la liqueur de Fehling. On la neutralise et on y ajoute 1 pour 100 d'acide sulfurique. On fait bouillir pendant un quart d'heure puis on neutralise. La liqueur réduit la liqueur de Fehling. On fait alors un dosage et on trouve que le pouvoir réducteur correspond à 0,3232 de glucose (lévulose).

Or, 0^{gr},40 d'inuline devrait donner, d'après la formule de Kiliani :



0^{gr},436 de glucose.

II^e expérience. — On injecte dans la veine fémorale d'un chien pesant 4^{kg},800, 50 centimètres cubes d'une solution d'inuline à 2 pour 100, soit 1 gramme d'inuline. L'expérience est faite à 4 heures de l'après-midi. Le lendemain matin, on recueille 125 centimètres cubes d'urine.

Cette urine ne réduit pas la liqueur de Fehling ; on la défèque au moyen du sous-acétate de plomb ; l'excès de

plomb est enlevé par le carbonate de soude. On neutralise et on fait bouillir pendant un quart d'heure avec 1 pour 100 d'acide sulfurique. On neutralise et on dose le sucre au moyen de la liqueur de Fehling. Le pouvoir réducteur correspond à 0^{gr},8632 de glucose. Or, d'après la formule de Kiliani, 1 gramme d'inuline correspond à 1^{gr},09 de glucose.

D'après les expériences que je viens de rapporter, il semble donc qu'une partie de l'inuline, près de 1/4 dans l'expérience I, 1/5 environ dans l'expérience II, ait été directement assimilée. Toutefois, il faut bien remarquer que des expériences de la nature de celles qui nous occupent comportent des causes d'erreur qui permettent peut-être de diminuer un peu le pourcentage de l'inuline qu'on n'a pas retrouvée dans les urines. Tout d'abord, en effet, malgré toutes les précautions, il est bien difficile de recueillir intégralement les urines émises par les animaux. En second lieu, les manipulations (défécation, filtrations répétées) que comporte l'analyse des urines entraînent presque inévitablement avec elles une perte de produit. Ces pertes, qui seraient peut-être négligeables s'il s'agissait d'un produit très soluble et pouvant exister dans les urines en quantité un peu considérable, sont au contraire à compter lorsqu'il s'agit d'un corps aussi peu soluble que l'inuline. Je crois donc qu'on peut conclure de ces expériences que, malgré qu'on n'ait pas retrouvé intégralement dans l'urine toute l'inuline introduite dans le sang, il y a lieu cependant de considérer que ce produit n'est pas directement assimilable par l'organisme.

Toutefois, comme ce point particulier de l'histoire physiologique de l'inuline constitue en somme le côté vraiment important et pour ainsi dire fondamental de la question qui nous occupe, j'ai voulu le reprendre en me plaçant dans des conditions nouvelles et telles qu'il ne reste pas le moindre doute sur l'exactitude des résultats obtenus.

Pour cela, j'ai opéré non pas comme précédemment avec le produit peu soluble retiré du dahlia ou du topinambour, mais bien avec l'inuline soluble découverte par M. Chevastelon dans un certain nombre de monocotylédones, l'ail, la tubéreuse, l'asphodèle (1).

Cette inuline d'ail, à la solubilité près, présente les caractères essentiels de l'inuline de topinambour. Elle a un pouvoir rotatoire égal à -39° ; elle s'hydrate avec la plus grande facilité sous l'influence des acides étendus ou sous l'influence de l'inulase ; elle ne fermente pas directement sous l'influence des levures, que ces levures soient inversives ou non ; enfin elle n'est pas directement assimilable par les végétaux. Cette inuline se prêtait donc admirablement à l'étude de la question qu'il s'agissait d'élucider.

Sur les conseils de M. Dastre, dans les expériences que je vais rapporter maintenant j'ai adopté pour l'introduction de la substance dans l'organisme, non pas la voie veineuse comme je l'avais fait précédemment, mais

(1) Je dois à l'obligeance de M. Chevastelon le produit qui m'a servi à faire cette dernière expérience. Je suis heureux de lui adresser ici tous mes remerciements.

la voie péritonéale. M. Dastre (1) a montré dès 1890 qu'il y a tout avantage à choisir cette voie d'introduction toutes les fois qu'il y a équivalence entre l'un et l'autre procédé, et il a établi que cette équivalence exigeait les deux conditions suivantes: 1° il faut que la substance ne modifie pas la paroi séreuse et qu'elle-même ne soit pas modifiée par celle-ci avant de pénétrer dans le sang; 2° il faut encore que le foie n'exerce pas sur cette substance une action élective particulière.

Or, la première condition se trouve évidemment réalisée pour l'inuline. Quant à la seconde, comme l'a dit M. Dastre, l'expérience même de l'injection intrapéritonéale sera un moyen d'être renseigné sur cette faculté élective. L'absorption, en effet, est alors opérée pour la presque totalité par les radicules de la veine porte et pour une minime portion seulement par les veines des parois et le système de la veine cave. Pour la plus grande partie, la substance traversera donc le foie avant le rein et pour une minime portion seulement le rein avant le foie.

En outre, dans cette expérience, l'inuline a été dissoute dans une solution physiologique isotonique avec le sérum sanguin. Voici d'ailleurs la formule de la solution injectée.

Inuline.	4 gr
Chlorure de sodium.. . . .	0 56
Eau distillée.	80

Cette solution, soumise à l'examen cryoscopique, donne 0°,56 comme point de congélation.

(1) DASTRE. Injections dans le péritoine comme moyen de remplacer les injections dans les veines. *Arch. de phys.*, 1890, p. 830.

Expérience. — Le samedi 12 mai, à 11 heures 1/2 du matin, on fait avec cette solution une injection péritonéale chez un chien de petite taille (4^{kg},600). A 6 heures du soir, le chien n'a encore émis que quelques centimètres cubes d'urine. Le lendemain matin, à 8 heures, on en recueille 320 centimètres cubes. Quatre heures plus tard, à midi, on peut encore recueillir 115 centimètres cubes d'urine qui, disons-le tout de suite, ne renferme pas d'inuline.

Il n'en est pas de même de l'urine recueillie le matin. Cette urine, qui présente une réaction légèrement acide, ne réduit pas la liqueur de Fehling; mais quelques centimètres cubes mis à bouillir pendant quelques secondes avec deux gouttes d'acide chlorhydrique donnent ensuite avec la liqueur de Fehling un abondant précipité d'oxydure cuivreux. On met alors à bouillir pendant 5 minutes 100 centimètres cubes de cette urine avec 1/2 pour 100 HCl. On laisse reposer le liquide, on complète le volume de 100 centimètres cubes, on neutralise l'excès d'acide et on fait un dosage à la liqueur de Fehling. On trouve que pour réduire 5 centimètres cubes de liqueur de Fehling, correspondant à 0,0245 de glucose, il faut verser 2 centimètres cubes d'urine. Donc les 320 centimètres cubes d'urine contiennent un poids de sucre réducteur exprimé par l'équation :

$$x = \frac{0,0245 \times 320}{2,1} = 3,73.$$

Or, M. Chevastelon a trouvé que 5^{gr},799 de matière active bien desséchée, dissoute dans 100 centimètres cubes d'eau et portée pendant 5 minutes à l'ébullition, après addition de 1/2 HCl, ont donné 6^{gr},5 de sucre réducteur calculé en glucose.

D'après ces données, 4 grammes d'inuline (quantité injectée) correspondent à 4,48 de sucre réducteur.

La différence $4,48 - 3,73 = 0,75$ exprime la quantité de sucre réducteur correspondant à l'inuline qu'on ne retrouve pas dans les urines et l'équation $x = \frac{5,799 \times 0,75}{6,5} = 0,66$

nous apprend que des 4 grammes d'inuline injectée dans le péritoine, 0,66, soit 16,5 pour 100, ont disparu. Que sont devenus ces 66 centigrammes d'inuline ? Ont-ils été utilisés par l'organisme ? Leur disparition provient-elle au contraire des pertes qui, malgré toutes les précautions prises, se sont produites au cours de l'expérience ? Il est assez difficile de se prononcer. D'ailleurs, la chose n'est pas très importante en elle-même. Le fait essentiel à considérer et à retenir c'est que lorsqu'on injecte dans la cavité péritonéale d'un animal 4 grammes d'inuline, on retrouve dans les urines de cet animal 3,34 environ de cette inuline inaltérée. Cette nouvelle expérience confirme donc les résultats fournis par les expériences précédentes, elle nous permet de conclure que l'inuline n'est pas directement assimilable par l'organisme et que, chez les animaux comme chez les végétaux, cet hydrate de carbone ne devient utilisable qu'après qu'il a subi un dédoublement préalable en molécules plus simples, c'est-à-dire en lévulose. Or, ce dédoublement peut s'accomplir par deux processus différents :

1° Par l'action des acides étendus ;

2° Par l'action d'un ferment.

Chez les végétaux, c'est par une action diastasique

que s'accomplit le dédoublement. En est-il de même chez les animaux? Pour répondre à cette question, il convenait : 1° d'étudier l'action des acides étendus sur l'inuline lorsque ces acides sont pris dans des conditions de dilution et de température se rapprochant autant que possible des conditions physiologiques; 2° d'étudier l'action des différents suc digestifs sur l'inuline. C'est ce que je ferai dans les deux paragraphes qui vont suivre.

ACTION DE QUELQUES ACIDES ÉTENDUS SUR L'INULINE.

Acide chlorhydrique. — Bien que le rôle le plus important de l'acide chlorhydrique du suc gastrique consiste à aider l'action de la pepsine sur les matières albuminoïdes, il n'est pas douteux qu'il puisse aussi avoir une action propre dans la digestion de certains hydrates de carbone.

Déjà, en 1855, Claude Bernard (1) pensait que le sucre de canne était dédoublé par le suc gastrique.

Béchamp (2) montra un peu plus tard que la supposition de Claude Bernard était exacte. Il fit voir en effet que le suc gastrique, même étendu de son volume d'eau, intervertit rapidement le sucre de canne, mais que, lorsque ce suc est exactement saturé par le carbonate de soude, le sucre de canne reste inaltéré.

M. Bourquelot (3), à propos de son travail sur le mal-

(1) Leçons de physiologie expérimentale, t. II, p. 314.

(2) BÉCHAMP. Les microzymas, p. 314.

(3) *Journal de l'anat. et de la physiol.*, n° de mars-avril 1886, p. 176.

tose, a eu l'occasion d'étudier comparativement l'action de l'acide chlorhydrique étendu sur des solutions de sucre de canne et de maltose. Il a vu que l'acide chlorhydrique à 0,20 pour 100 est sans action sur le maltose, mais qu'il intervertit complètement, en moins de 18 heures, une solution de saccharose à 0,50 pour 100.

Il y avait donc lieu d'étudier tout d'abord l'action de l'acide chlorhydrique étendu sur l'inuline (1).

Je me suis servi pour cela de solution renfermant 1 pour 100 d'inuline et 0,20 d'acide chlorhydrique (HCl) pour 100.

Température 38°. Le tableau suivant résume les résultats obtenus :

DURÉE DE L'ESSAI	SUCRE RÉDUCTEUR	INULINE SACCHARIFIÉE (2)
6 heures	0,354	37 p. 100
12 —	0,570	52 —
28 —	0,975	89 —

Ces résultats montrent que l'acide chlorhydrique à 0,20 pour 100 saccharifie assez rapidement et assez complètement l'inuline.

Acide lactique. — Une solution d'inuline à 1 pour 100 est additionnée de 0,493 d'acide lactique pour 100 (= 0,20 HCl) et exposée à la température de 38° pendant

(1) Au cours de ces recherches, je me suis d'ailleurs fréquemment inspiré de la technique et des méthodes indiquées par M. Bourquelot dans son mémoire classique sur le maltose. Grâce à ce guide très sûr, ces recherches ont été singulièrement facilitées.

(2) Ces calculs sont faits en prenant pour point de départ la formule de Kiliani $(C^6H^{10}O^5)_nH^2O$.

24 heures. Au bout de ce temps l'inuline n'était pas altérée. L'acide lactique à la température de 100° ne saccharifie d'ailleurs pas l'inuline. Il faut, pour que la saccharification ait lieu, maintenir pendant un certain temps le mélange à une température voisine de 110°.

Acide carbonique à la pression ordinaire. — Les expériences de Lippmann (1) ont montré que l'acide carbonique sous pression pouvait intervertir en totalité le sucre de canne. M. Bourquelot a montré de son côté que l'acide carbonique à la pression ordinaire pouvait intervertir partiellement le sucre de canne. En opérant dans les conditions que je décrirai tout à l'heure à propos de l'inuline, il a vu qu'au bout de cinq jours, à la température de 38°, l'acide carbonique avait interverti 3,22 pour 100 du sucre de canne mis en expérience. Dans les mêmes conditions le maltose n'était pas altéré.

J'ai étudié l'action de l'acide carbonique sur l'inuline en me plaçant dans les mêmes conditions.

Dans un ballon à long col, on introduit 100 centimètres cubes d'une solution d'inuline à 1 pour 100. On effile ensuite le col et, à l'aide d'un tube presque capillaire descendant jusqu'au fond du ballon, on fait passer dans la solution un courant d'acide carbonique bien lavé. En maintenant le courant pendant un temps suffisant, on sature la solution d'acide carbonique et on remplace

(1) Ed. v. LIPPMANN. Ueber die Inversion des Rohrzuckers durch Kohlensäure, und einige Eigenschaften des Invertzuckers. Ber. d. d. Chemie Gesells., t. XIII, p. 1822 (1880).

complètement par ce gaz l'air plus léger du ballon. On ferme alors à la lampe le col du ballon.

Ainsi préparé, le ballon fut abandonné pendant six jours dans une étuve réglée à 38°. Au bout de ce temps la solution ne contenait pas la moindre trace de sucre réducteur.

Ces trois acides, acide chlorhydrique, acide lactique, acide carbonique sont en somme les trois acides physiologiques intervenant ou pouvant intervenir dans l'acte chimique de la digestion. Ce qui précède montre que, parmi eux, seul l'acide chlorhydrique est susceptible d'exercer une action saccharifiante sur l'hydrate de carbone qui nous occupe.

Est-ce à dire pour cela que l'action saccharifiante de l'acide chlorhydrique sur l'inuline soit le mécanisme physiologique normal en vertu duquel cet hydrate de carbone devient assimilable? Il serait prématuré de conclure dès maintenant dans ce sens.

J'ai dit plus haut que M. Bourquelot avait démontré que l'acide chlorhydrique à 0,20 pour 100 intervertit rapidement et peut intervertir complètement le sucre de canne. Il ne s'en suit pas pour cela que l'acide chlorhydrique du suc gastrique soit le véritable agent physiologique de l'assimilation du sucre de canne. Nous savons au contraire que le véritable dédoublement, la véritable digestion du sucre de canne s'effectue dans l'intestin moyen sous l'influence de l'invertine sécrétée par cette portion du tube digestif. Rien ne prouve qu'il n'en peut pas être de même pour l'inuline.

D'ailleurs, il serait inexact d'assimiler l'action du suc

gastrique à celle d'une solution d'acide chlorhydrique à 0,20 pour 100. Tout d'abord, en effet, l'acidité du suc gastrique n'est pas entièrement due à de l'acide chlorhydrique libre. En second lieu, l'acidité du suc gastrique normal (excepté chez les carnivores) n'est pas égal à 0,20 d'acide chlorhydrique pour 100. Enfin, les conditions de contact dans l'estomac du suc gastrique et des matières inulacées ne peuvent pas être assimilées aux conditions réalisées par une solution renfermant 0,50 de saccharose ou 1 gramme d'inuline et 0,20 d'acide chlorhydrique pour 100.

De toute manière, il était intéressant d'étudier directement l'action du suc gastrique sur l'inuline.

A cet effet, on prend un suc gastrique caractérisé par les constantes suivantes :

$$\begin{aligned} A &= 2,5 \\ T &= 3,72 \\ H &= 2,24 \\ C &= 1,32 \\ H + C &= 2,56 \\ F &= 1,16 \end{aligned}$$

La valeur^e de ces coefficients nous montre que nous sommes en présence d'un suc gastrique d'hyperchlorhydrique. On prend :

Suc gastrique.	50 ^{cc}
Inuline.	0 25
Eau distillée.	20

On dissout à chaud l'inuline dans les 20 centimètres cubes d'eau, on laisse refroidir à 40° environ et on ajoute la solution aux 50 centimètres cubes de suc gastrique. Il est facile de voir qu'on se trouve ainsi en présence

d'une solution dont l'acidité totale équivaut à 0,20 d'acide chlorhydrique pour 100.

Le suc gastrique mis en expérience réduisait la liqueur de Fehling et le dosage a montré que ce pouvoir réducteur correspondait à 0^{gr},102 de glucose. Ce point établi, on porte le ballon contenant la solution précédente dans une étuve chauffée à 38°. Au bout de 24 heures on fait un nouveau dosage du sucre réducteur et on trouve 0^{gr},316. En retranchant la quantité initiale de sucre trouvée, on voit que le sucre réducteur formé aux dépens de l'inuline est 0^{gr},214.

Voici donc qu'un suc gastrique dont l'acidité totale correspond à 0,20 pour 100 d'acide chlorhydrique peut facilement saccharifier l'inuline. Mais, je le répète, avant d'en conclure que le suc gastrique est l'agent physiologique normal de la saccharification de l'inuline, il convient d'examiner l'action des différents sucs digestifs sur cet hydrate de carbone.

Bien que les acides que j'ai étudiés jusqu'ici soient vraiment les seuls intéressants au point de vue physiologique, j'ai néanmoins examiné l'action de quelques autres acides organiques sur l'inuline. Je n'entrerai pas ici dans le détail des expériences que j'ai faites dans ce but et je me contenterai de signaler qu'à la température de 38° l'acide acétique à 0,329 (= 0,20 HCl pour 100) n'exerce aucune action sur l'inuline ; que l'acide tartrique à 0,82 pour 100 n'exerce qu'une action lente et très faible (14 pour 100 en 12 heures) ; que l'acide oxalique au contraire se comporte à la façon d'un acide minéral. En 12 heures en effet une solution d'acide oxalique à 0,986 pour 100 saccharifie

60 pour 100 d'une solution à 1 pour 100 d'inuline. Ce fait doit être rapproché de ceux indiqués par M. Bourquelot (1) à propos du maltose et par Salomon (2) à propos de l'amidon.

En résumé, comme on peut le voir par les chiffres fournis par les expériences précédentes, l'inuline, au point de vue de sa résistance à l'égard des acides, occupe une place intermédiaire entre le saccharose et le maltose ; plus résistante d'une façon générale que le saccharose elle l'est moins que le maltose.

ACTION SUR L'INULINE DES SUCS DIGESTIFS D'ANIMAUX
SOUMIS A UN RÉGIME ORDINAIRE

Salive. — L'étude de l'action de la salive sur l'inuline a été faite par Green et ce savant est arrivé à cette conclusion que la salive n'exerce aucune action sur l'inuline. J'ai moi-même étudié à nouveau cette sécrétion et mes expériences confirment absolument celles de Green.

Pancréatine. — Avant d'étudier le suc pancréatique proprement dit, j'ai examiné l'action sur l'inuline de la pancréatine qu'on trouve dans le commerce. Cette pancréatine a d'abord été étudiée au point de vue de son action sur l'amidon : elle liquéfiait rapidement et saccharifiait complètement l'empois d'amidon. Elle s'est montrée tout à fait inactive vis-à-vis de l'inuline.

(1) *Loc. cit.*

(2) SALOMON, *Annales de phys. et de chim.*, 1885, t. IV (6).

Examen des sucs digestifs chez le lapin à jeun.

Les expériences que je vais rapporter maintenant ont été faites successivement avec des animaux à jeun depuis la veille et avec des animaux en pleine digestion.

Suc pancréatique d'animal à jeun. — Le pancréas d'un lapin à jeun depuis la veille est finement haché et mis à macérer dans 50 centimètres cubes d'eau distillée, pendant 4 heures, à basse température. Au bout de ce temps on filtre et on fait avec le liquide filtré les deux expériences suivantes :

Expérience I. — A de l'empois d'amidon on ajoute 20 centimètres cubes de liquide filtré; on expose à la température de 38° pendant 24 heures. L'empois est complètement saccharifié.

Expérience II. — A 50 centimètres cubes d'une solution d'inuline à 1 pour 100 on ajoute 20 centimètres cubes du même liquide de macération. On expose le mélange à la température de 38°. Au bout de 24 heures, le liquide ne contient pas la moindre trace de sucre réducteur.

De ces deux expériences on conclut que le liquide de macération du pancréas d'un lapin à jeun depuis la veille ne contient aucun ferment soluble capable de saccharifier l'inuline. D'ailleurs si au lieu du liquide de macération dont je viens de parler on met le tissu pancréatique lui-même en contact avec la solution d'inuline et dans les mêmes conditions de température que précédemment, on obtient encore un résultat négatif.

Suc intestinal d'animal à jeun. — Claude Bernard, le premier, a nettement établi que le suc intestinal ou les

macérations de la muqueuse intestinale possèdent la propriété d'intervertir le sucre de canne.

Depuis cette époque de nombreuses recherches sont venues confirmer les faits avancés par Claude Bernard.

Paschutin, Brown et Héron, Grünert, Demaut, etc., ont étudié les propriétés physiologiques du suc intestinal pur chez le chien, le porc, le mouton et aussi chez l'homme. Dans tous les cas ils ont observé la propriété inverse du suc.

Plus récemment M. Bourquelot a étudié le suc intestinal du lapin au point de vue de son action sur le maltose et il a vu que la portion moyenne de l'intestin grêle renferme un ferment capable de dédoubler le maltose et que ce dédoublement est surtout marqué quand on opère avec la portion moyenne d'un intestin de lapin en digestion.

D'autre part Claude Bernard (1) a également démontré que le liquide intestinal saccharifie l'amidon. Toutefois, suivant certains auteurs, le pouvoir amylolytique de la muqueuse intestinale serait de même ordre que celui de la plupart des tissus de l'organisme.

Quoi qu'il en soit, la muqueuse intestinale sécrète au moins deux diastases, une diastase inverse et une diastase capable de dédoubler le maltose. Il y avait donc lieu de rechercher comment se comporte cette muqueuse à l'égard de l'inuline. Comme M. Bourquelot l'avait fait pour le maltose, j'ai étudié séparément la portion duodénale, la portion moyenne et la portion terminale de l'intestin grêle. Voici le détail des expériences faites chez des animaux à jeun depuis la veille :

Expérience I. — Dans une dissolution d'inuline à 1 pour 100, on met à macérer une portion d'intestin de lapin à jeun, portion prise au voisinage de la région pylorique et préalablement lavée par un courant d'eau. On expose le macéré à la température de 38°. On examine le liquide après 6 heures, 12 heures, 18 heures et 24 heures d'exposition à l'étuve. On constate que, même après 24 heures, le liquide ne contient pas de sucre réducteur.

Expérience II. — On répète la même expérience avec un fragment du même intestin prélevé à un mètre environ du pylore, bien au-dessous, par conséquent, du point où débouche le canal pancréatique. Après 24 heures, on constate encore l'absence du sucre réducteur.

Expérience III. — La même expérience, répétée avec un fragment d'intestin terminal, donne également des résultats négatifs.

Dans les expériences que je viens de rapporter, les milieux ont constamment été envahis par les bactéries. Une objection pouvait dès lors être faite aux résultats fournis par ces expériences. On pouvait objecter en effet qu'une partie de l'inuline mise en expérience avait pu être saccharifiée mais que le lévulose formé avait été au fur et à mesure consommé par les bactéries. En vérité cette supposition est peu vraisemblable, car la consommation des bactéries en matière sucrée ne peut pas être telle qu'elle corresponde à la disparition du sucre qui aurait pris naissance si l'intestin contenait normalement, physiologiquement de l'inulase.

On en peut donner deux preuves indirectes. En effet si dans les expériences précédentes on remplace l'inuline par du sucre de canne, on peut toujours, malgré la présence des bactéries, constater la formation de glucose aux dépens de ce sucre de canne. En second lieu,

si dans ces mêmes expériences ayant donné un résultat négatif au point de vue de la recherche de l'inulase, on vient à ajouter une solution de ce ferment on constate bientôt la formation de sucre réducteur. D'ailleurs j'ai répété ces expériences en présence de corps tels que le thymol ou le fluorure de sodium et les résultats obtenus sont demeurés les mêmes. On peut donc affirmer que chez le lapin, et dans les conditions que j'ai rapportées, c'est-à-dire chez cet animal soumis à un régime ordinaire, herbacé ou amylacé, et pris à jeun il n'existe ni dans le pancréas, ni dans l'intestin grêle, ni dans le gros intestin, de diastase capable de saccharifier l'inuline.

Examen des sucs digestifs chez le même animal en digestion.

La sécrétion glandulaire des ferments solubles digestifs paraît être une fonction continue ; autrement dit il paraît démontré qu'elle ne cesse pas, même en dehors de l'accomplissement du travail de la digestion. Toutefois si la sécrétion de l'appareil digestif glandulaire est une fonction continue, il n'est pas douteux cependant qu'elle varie d'intensité suivant le moment où on la considère. D'une manière générale on peut dire que cette sécrétion, très active, la plus active possible au moment de la digestion, l'est beaucoup moins en dehors de l'accomplissement de ce travail. Pour n'en citer qu'une preuve je rappellerai que M. Bourquelot (1) a montré

(1) E. BOURQUELOT. Recherches sur les propriétés physiolog. du maltose. *Journal de l'anat. et de la physiol.*, mars-avril 1886, p. 182.

que, tandis que la portion moyenne de l'intestin grêle d'un lapin à jeun depuis la veille n'avait pu en 24 heures dédoubler que 20 pour 100 de maltose, la même portion prise chez un lapin en pleine digestion avait, en 18 heures, dédoublé 70 pour 100 du maltose mis en expérience.

Il a également montré que le pancréas du même animal à jeun était incapable de dédoubler le maltose alors que le pancréas de l'animal en digestion pouvait dédoubler ce sucre.

J'ai donc répété, soit avec le pancréas, soit avec l'intestin grêle du lapin en digestion, la même série d'expériences que j'avais faites avec le pancréas et l'intestin grêle du même animal à jeun. Les résultats ont été les mêmes.

L'appareil digestif glandulaire du lapin, soit en dehors, soit pendant l'acte de la digestion ne sécrète donc pas d'inulase.

J'ai examiné au même point de vue l'appareil digestif d'un certain nombre d'autres animaux. Les recherches faites chez le cobaye, chez le bœuf, chez le porc, chez le chien, chez les oiseaux, me permettent d'affirmer qu'on ne trouve d'inulase dans le tube digestif d'aucun de ces animaux.

D'ailleurs en même temps que je poursuivais ces recherches, MM. Biéri et Portier (1) faisaient à la Sorbonne, dans le laboratoire de M. le P^r Dastre, un travail sur le

(1) MM. BIÉRI et PORTIER. *C. R. des séances de la Société de biol.*, 5 mai 1900.

même sujet. Les recherches de MM. Biéri et Portier ont porté sur le chien, le lapin, le phoque (*phoca barbata*). Les résultats obtenus par ces auteurs confirment absolument ceux que je viens de faire connaître.

Je crois qu'on peut conclure de ces recherches que l'inulase ne figure pas parmi les ferments solubles sécrétés normalement par l'appareil digestif des animaux supérieurs.

ACTION SUR L'INULINE DES SUCS DIGESTIFS D'ANIMAUX
SOUmis A UN RÉGIME EXCLUSIVEMENT INULACÉ

C'est ici que se posait la question de savoir si, sous l'influence d'un régime spécial, d'un régime inulacé, l'appareil digestif glandulaire ne s'adapterait pas aux conditions nouvelles apportées par ce régime.

A ce dernier point en effet se rattache une question doctrinale d'une grande importance et qui n'est pas complètement résolue. Cette question est celle qui se rapporte aux causes qui influent sur la sécrétion des diastases et qui a été si nettement formulée par M. Duclaux (1) dans les lignes suivantes que j'emprunte à son ouvrage magistral sur les diastases : « Soit une cellule pouvant vivre aux dépens de diverses substances qui, comme le sucre candi, l'amidon, la caséine, ont besoin, avant de devenir assimilables, alimentaires, de subir l'action d'une diastase spéciale à chacune d'elles. Cette cellule

(1) DuCLAUx. Traité de microbiologie, t. II, p. 83.

sécrète-t-elle d'une façon constante et en quelque sorte nécessaire toutes les diastases qu'elle a le pouvoir ou l'occasion d'utiliser, ou bien la production de ces diastases est-elle intermittente, subordonnée aux conditions d'alimentation et liée à la présence de l'aliment qu'il s'agit de digérer? En d'autres termes cette cellule sécrète-t-elle à la fois toutes ces diastases ou seulement chacune d'elles au fur et à mesure de ses besoins? »

A vrai dire, un certain nombre de faits, les uns déjà anciens, les autres plus récents, semblent plaider en faveur de la sécrétion simultanée des diastases.

Pourtant on connaît aussi des faits bien observés et qui semblent indiquer que, en ce qui concerne le point spécial de la sécrétion des diastases, le fonctionnement de la cellule est loin d'être indépendant de la nature de l'aliment. On sait par exemple, depuis les belles recherches de Brown et Morris (1), que les cellules du scutellum du grain d'orge en germination ne donnent pas ou donnent moins d'amylase lorsqu'on les fait vivre sur un support nutritif sucré. Il s'agit ici à vrai dire d'un phénomène un peu particulier, puisque le sucre dont il s'agit est en somme un des produits du dédoublement de l'aliment normal de la jeune plante.

On comprend dès lors que la cellule trouvant ce sucre tout formé retarde la mise en œuvre des moyens dont elle dispose pour se le procurer jusqu'au moment où la réserve qu'on lui fournit est épuisée.

(1) BROWN et MORRIS. Recherches sur la germination de quelques graminées. *Journal of the Chem. Society*, juin 1890.

C'est ce que Brown et Morris ont parfaitement interprété en disant que la sécrétion de la diastase active par l'épithélium peut être regardée jusqu'à un certain point comme un phénomène d'inanition.

Mais si l'exemple du scutellum du grain d'orge n'est pas probant pour la seconde alternative que nous avons supposée, il n'en est pas de même de celui qui nous est fourni par *Aspergillus glaucus* dont M. Duclaux nous a fait connaître les différentes manières d'être en présence des différents aliments. Ici il n'y a plus de doute, l'*Aspergillus glaucus* ne sécrète que la diastase dont il a un besoin immédiat.

D'autre part en étudiant les diastases du *penicillium glaucum* on constate que ce champignon ensemencé sur un liquide capable de le nourrir sans qu'il soit pour cela besoin de l'intervention d'aucune diastase sécrète néanmoins une sucrase très active. Cela montre que la nature de l'aliment n'est pas seule à intervenir et que la nature de la cellule vivante joue aussi un rôle dans la manifestation de ses moyens de nutrition. Toutefois, dans l'exemple que nous venons de prendre il n'est question bien entendu que de l'absence de sécrétion externe des diastases. On sait en effet aujourd'hui que le protoplasma des cellules peut être le siège de formation de produits diastasiques, sans pour cela les céder nécessairement au milieu ambiant sur lequel il se développe.

On ne doit donc pas conclure de l'absence de diastases dans ce milieu à une inactivité fonctionnelle absolue de la cellule.

D'ailleurs, toujours dans le même ordre d'idées

L'étude de l'*aspergillus niger* semble montrer que chez ce végétal la cellule ne se préoccupe que bien secondairement du milieu nutritif qui lui est offert et que dans tous les cas elle sécrète en même temps plusieurs diastases. M. Bourquelot a montré qu'on y pouvait trouver à la fois de la diastase, de la tréhalase, de la maltase, de l'inulase; Gérard y a trouvé de l'émulsine. De plus j'ai vu moi-même que la sécrétion de l'inulase par ce champignon était indépendante de la nature de l'aliment hydrocarboné qu'on mettait à sa disposition.

Dans ce qui précède il n'a été question que d'organismes inférieurs. Comment, au point de vue qui nous occupe, les choses se passent-elles chez les animaux supérieurs? Les phénomènes de sécrétion diastasique sont-ils dépendants ou indépendants de la nature de l'aliment?

Ici les choses sont naturellement plus compliquées parce qu'intervient dans ces phénomènes une influence toute spéciale, l'influence du système nerveux. Toutefois, s'il n'est pas douteux que cette influence nerveuse soit considérable sur les sécrétions digestives chez les animaux supérieurs, on ne doit pourtant pas admettre qu'elle soit toujours prépondérante et plus puissante que l'influence purement chimique de la nature de l'aliment.

Je ne veux pas ici développer longuement cette question. Je rappellerai seulement à ce propos que les expériences de Vassilieff ont montré que l'influence de l'aliment était réelle sur la sécrétion des diastases pancréatiques. Ce savant soumettait alternativement à un régime de viande puis à un régime de pain et de lait des

chiens porteurs d'une fistule pancréatique. Il recueillait le suc pancréatique et y mesurait la quantité d'amylase par le poids de sucre formé aux dépens d'un empois d'amidon à 1 pour 100 et la quantité de trypsine par la méthode de Mette.

M. Vassilieff constata ainsi très nettement que le régime de viande augmentait la quantité de trypsine et diminuait la quantité d'amylase, tandis que le régime de pain et de lait produisait un effet contraire (1).

Un autre fait bien connu vient encore montrer l'influence de la nature de l'aliment sur la marche des sécrétions diastasiques ; c'est le fait, sinon de la disparition totale, du moins de la diminution considérable de la présure chez les mammifères adultes.

Il n'est donc pas douteux que chez les animaux supérieurs la nature de l'aliment retentit sur la marche des sécrétions diastasiques. Mais dans les exemples que je viens de rappeler, il s'agit en somme de variations quantitatives en quelque sorte, de variations portant sur la sécrétion de diastases qu'on rencontre normalement chez les animaux supérieurs.

Le problème est plus nouveau et autrement intéressant, qui consiste à rechercher si un organisme supérieur peut, sous l'influence d'un aliment donné, sécréter la diastase spécifique de cet aliment alors que normalement il ne sécrète pas cette diastase. Comme nous l'avons vu précédemment on connaît chez certains organismes

(1) Expériences rapportées par DuCLAUx. Traité de microbiologie, t. II, p. 91.

inférieurs (*aspergillus glaucus*) des phénomènes d'adaptation physiologique de cet ordre.

Comment se comportent à cet égard les animaux supérieurs ? Pour étudier une semblable question, certaines conditions étaient nécessaires. Il fallait :

1° Que la substance dont on voulait étudier l'influence fût ou put faire partie de l'alimentation normale des animaux en expérience ;

2° Que cette substance ne puisse devenir aliment qu'à la condition de subir une simplification moléculaire pouvant s'accomplir et s'accomplissant sûrement dans certains cas sous l'influence d'une diastase.

3° Que cette diastase soit une diastase vraiment spécifique ;

4° Enfin qu'elle ne fasse pas partie normalement des sécrétions diastasiques élaborées par les animaux considérés.

Toutes ces conditions se trouvaient réalisées avec l'hydrate de carbone et le ferment qui nous occupent.

1° L'inuline est en effet la matière hydrocarbonée d'un certain nombre de végétaux journellement ou fréquemment consommés par l'homme, et on sait en outre que certains végétaux inulacés tels que les topinambours constituent dans certains pays et à certaines époques de l'année la base de l'alimentation du gros bétail.

2° Chez les végétaux inulacés, l'inuline ne devient aliment qu'après que, sous l'influence d'un ferment diastatique, elle a subi une simplification moléculaire l'amenant au terme glucose et j'ai montré que chez les ani-

maux l'inuline n'est pas non plus directement utilisable par l'organisme ;

3° L'inulase est une diastase spécifique ;

4° Elle ne fait pas partie des diastases normalement sécrétées par le tube digestif des animaux supérieurs.

Mes expériences ont porté sur quatre espèces d'animaux : le bœuf, le lapin, le chien et le canard. Tous ces animaux ne s'accommodent pas également bien d'une nourriture exclusivement inulacée ; toutefois j'ai pu nourrir pendant plusieurs mois des chiens et des lapins uniquement avec des topinambours.

Le bœuf ne faisant pas ordinairement partie de nos animaux de laboratoire, je n'ai pas pu surveiller moi-même le régime des deux animaux sur lesquels ont porté mes expériences. J'ai dû entrer en relation avec un éleveur du Périgord, envoyant ses produits au marché de la Villette et qui m'a affirmé que ses bœufs avaient été *poussés* avec un mélange de betteraves et de topinambours.

J'ai pu examiner d'une façon très complète l'appareil digestif de ces deux animaux et j'ai vu qu'aucune partie de cet appareil, ni l'intestin grêle, ni le pancréas, ni aucune des poches gastriques ne contenait d'inulase.

Mais en somme, en raison des circonstances très particulières que je viens de faire connaître, un doute plane sur la valeur de ces expériences et dans tous les cas, je ne me suis pas cru autorisé à les considérer comme suffisantes pour me permettre d'en tirer une conclusion définitive.

Expériences sur le lapin. — Mes expériences sur le lapin ont porté sur un grand nombre d'individus et je

n'ai pas tardé à voir que les différents animaux en expérience s'accommodaient très inégalement du régime que je leur imposais. A l'origine j'employais des sujets relativement jeunes ; mais ces animaux montraient pour les topinambours une véritable inappétence, ils maigrissaient rapidement et plusieurs succombèrent au bout de 18 à 20 jours de régime.

Je fus donc amené à sacrifier mes animaux après douze à quinze jours de régime. Chez aucun de ces jeunes animaux, je ne pus découvrir d'inulase. Mais il s'agissait, je le répète, d'animaux n'ayant été soumis que pendant un temps relativement court au régime inulacé et n'ayant en somme que peu ou pas profité de cette alimentation nouvelle, comme en témoignait leur amaigrissement rapide. Ils se trouvaient donc en vérité dans des conditions physiologiques et de santé toutes particulières et telles qu'il ne m'était pas encore ici possible de tirer de ces expériences des conclusions certaines. Mais au cours de ces expériences, j'eus l'occasion de remarquer que de plus gros animaux s'accommodaient infiniment mieux des tubercules de topinambours. Voici d'ailleurs les variations de poids subies par un de ces animaux mis en expérience le 20 novembre 1899 et sacrifié le 8 janvier 1900.

DATES	POIDS DE L'ANIMAL
20 novembre	3 kg ^r 885
27 —	3 680
5 décembre	3 750
11 —	3 710
17 —	3 640
25 —	3 360
2 janvier	3 680
8 —	3 860

Cet animal avait donc été soumis pendant 48 jours au régime inulacé et il n'avait pas subi de ce fait une diminution sensible de poids. Il était en somme dans les meilleures conditions possibles pour servir à l'expérimentation. Or, pas plus chez cet animal que chez les précédents, je n'ai trouvé d'inulase soit dans le pancréas, soit dans une portion quelconque du tube digestif.

Expériences chez le canard. — Le canard ne s'accommode pas très bien des topinambours. Cependant j'ai pu nourrir un de ces animaux pendant 14 jours avec une pâtée de topinambours cuits. L'examen des différentes parties du tube digestif au point de vue de la recherche de l'inulase a également donné des résultats négatifs.

Expériences chez le chien. — Après les expériences que je viens de rapporter, il était bien permis de supposer que dès l'instant où des animaux tels que le bœuf ou le lapin ne parvenaient pas à adapter leur appareil digestif glandulaire à ces conditions nouvelles d'alimentation, il n'y avait guère de chances pour qu'un animal tel que le chien pût fournir des résultats différents. Toutefois il m'a paru intéressant de voir dans quelle mesure cet animal qui, bien qu'omnivore est plus spécialement carnivore, pourrait s'accommoder d'une nourriture à peu près exclusivement végétale et inulacée.

L'un des animaux sur lesquels j'ai expérimenté pesait au début des expériences (20 novembre 1899) 9^{kg},950. Cet animal fut mis à jeûner pendant six jours. Le 6^e jour il ne pesait plus que 9^{kg},300: il avait donc perdu 650 grammes. Pendant 15 jours il reçut comme unique nourriture des topinambours cuits additionnés d'un peu

de sel. Au bout de huit jours de ce régime il pesait 9^{kg},200. Huit jours plus tard (3 décembre), il ne pesait plus que 9 kilogrammes. De plus, tandis que, jusqu'alors, il avait paru manger sa pâtée avec assez d'appétit, à partir de cette époque il fut visible qu'il éprouvait pour cette nourriture une certaine répugnance. Au lieu de la dévorer gloutonnement il ne la mangeait plus que lentement, du bout des dents, et le plus souvent il en laissait une assez grande quantité. A partir de ce moment seulement on ajouta à sa pâtée un peu de graisse, une quarantaine de grammes environ.

Voici d'ailleurs les variations de poids notées depuis le début du traitement :

DATES	POIDS DE L'ANIMAL
20 novembre	9 ^{kg} 300
27 —	9 200
3 décembre	9
11 —	8 700
17 —	8 300
25 —	8 300
31 —	8 700
7 janvier	8 300
15 —	8 200
25 —	7 900
4 février	7 700
11 —	7 450
18 —	7 240

A partir de la fin de janvier, l'animal manifeste pour cette nourriture une répugnance de plus en plus grande; on sent que ce n'est que poussé par la faim et on pourrait presque dire pour la tromper, qu'il se décide à manger sa pâtée. Il maigrit d'ailleurs presque à vue d'œil; il

est moins gai, bâille fréquemment et essaye de ronger les montants de bois de sa loge. Le 18 février, c'est-à-dire après 3 mois environ d'un régime à peu près exclusivement végétal et inulacé pendant lesquels l'animal a perdu un peu plus de deux kilogrammes de son poids, je le sacrifie. Conformément à mes prévisions, je ne trouve pas d'inulase dans son appareil digestif (1).

Voici donc démontré je crois que, si chez les animaux supérieurs la nature de l'aliment a une influence certaine sur la marche des sécrétions diastasiques alors qu'il s'agit de diastases préexistantes, cette influence est nulle quand il s'agit de diastases n'existant pas normalement chez ces animaux. La nature de l'aliment détermine *quantitativement* des variations dans la sécrétion des diastases, elle ne détermine pas *qualitativement* des variations du même ordre.

Peut-être cependant convient-il de faire des réserves. Les expériences qui nous ont conduit à la conclusion ci-dessus n'ont en effet de valeur précise que pour les conditions de temps, de durée qu'elles embrassent.

Elles ne veulent pas dire en un mot que chez les animaux supérieurs la fonction physiologique représentée par la sécrétion des diastases digestives soit une fonction physiologique immuable ; elles signifient seulement que, dans les conditions de temps, de durée que nous

(1) Je n'ai pas cru utile d'entrer au sujet de ces nouvelles expériences dans le détail d'opérations qui ne sont en somme que la répétition de celles que j'ai rapportées dans un des paragraphes précédents à propos de l'étude des sucs digestifs d'animaux normaux.

avons observées, cette fonction physiologique ne s'est pas adaptée aux conditions nouvelles apportées par l'aliment. Rien ne prouve en effet que, de même qu'avec le temps et sous des influences déterminées, on peut voir chez les animaux apparaître, disparaître ou tout au moins se modifier certains caractères morphologiques ou anatomiques, de même avec le temps et sous l'influence de l'aliment on ne verrait pas se modifier la nature des sécrétions diastasiques. Mais ce sont là des hypothèses et des hypothèses qu'il sera bien difficile de vérifier expérimentalement.

Discussion des recherches précédentes et leur signification au point de vue du véritable mécanisme de l'assimilation de l'inuline.

De l'ensemble des recherches que je viens de faire connaître, il ressort un certain nombre de faits que nous pouvons résumer en disant :

- 1^o L'inuline n'est pas directement assimilable par l'organisme ;
- 2^o L'appareil digestif des animaux supérieurs ne sécrète dans aucune de ses parties la diastase spécifique de l'inuline ;
- 3^o L'inuline est facilement décomposable par les acides étendus.

De ces faits, on peut tirer une conclusion et une seule, à savoir que dans l'organisme c'est le suc gastrique qui est l'agent physiologique normal de la saccharification de l'inuline.

Considérée au point de vue de la chimie pure, cette conclusion n'a rien qui puisse nous surprendre puisque, ainsi que nous l'avons vu, l'acide chlorhydrique à 0,20 pour 100 saccharifie l'inuline avec la plus grande facilité. Mais, comme je l'ai déjà fait remarquer, on pouvait objecter à cela que l'acidité du suc gastrique n'était pas due tout entière à l'acide chlorhydrique et que de plus chez les herbivores, qui sont ou qui peuvent être les seuls vrais consommateurs d'inuline, l'acidité totale du suc gastrique n'était pas équivalente à 0,20 pour 100 d'acide chlorhydrique. Mais j'ai montré qu'un suc gastrique humain dont l'acidité totale correspondait à 0,20 d'acide chlorhydrique pour 100 saccharifiait également l'inuline avec la plus grande facilité. De plus, comme après la constatation de l'absence de l'inulase dans l'appareil digestif, cette question de l'action des acides étendus sur l'inuline prenait une importance prépondérante, j'ai fait de nouvelles recherches sur ce point avec des solutions d'acide chlorhydrique plus étendues que celle dont j'avais tout d'abord étudié l'action, et j'ai vu qu'il n'était même pas besoin d'avoir recours à des solutions à 0,20 pour 100 d'acide chlorhydrique pour saccharifier l'inuline.

Voici comme exemple une des expériences auxquelles je fais allusion.

On prend

Solution d'inuline à 1 p. 100.	50 ^{cc}
HCl.	0 10
Eau.	50

On porte à l'étuve à 38°, On examine la solution après

12 heures et 24 heures de séjour à cette température et on trouve les chiffres suivants :

DURÉE DU SÉJOUR A L'ÉTUVE	QUANTITÉ D'INULINE TRANSFORMÉE P. 100
—	—
12 heures	47,80
24 —	86,20

D'ailleurs un autre moyen s'offrait d'étudier la destinée de l'inuline dans l'appareil digestif, de se rendre compte plus particulièrement de l'action du suc gastrique sur l'inuline. Ce moyen consistait à donner à un animal un repas abondant uniquement composé de tubercules de topinambours, à sacrifier l'animal en pleine digestion et à examiner la composition en sucre et en inuline du contenu gastrique.

Pour être bien sûr que le contenu gastrique de l'animal sur lequel on opère provient uniquement des tubercules de topinambour, on prend un lapin qui depuis 15 jours n'a reçu d'autre nourriture que ces tubercules. On lui donne à 6 heures du matin un repas abondant et on le sacrifie à 3 heures de l'après-midi. On ouvre aussitôt l'animal, on enlève l'estomac et on en sépare le contenu. Ce contenu a une réaction acide; il pèse 200 grammes. On le délaie dans 400 centimètres cubes d'eau. On obtient ainsi une bouillie acide qu'on neutralise et qu'on fait bouillir pendant un quart d'heure. On passe à travers un linge, on reprend le résidu par une nouvelle quantité d'eau. On exprime et on passe de nouveau, on réunit les deux liqueurs et on défèque au moyen du sous-acétate de plomb. On filtre et on enlève l'excès de plomb au moyen du carbonate de sodium. Comme on obtient ainsi

un volume relativement considérable de liquide et que l'examen d'une petite portion de ce liquide montre qu'il ne contient que très peu de sucre, il convient de le soumettre à l'évaporation de manière à le réduire à un plus petit volume. Or, on sait avec quelle facilité les glucoses et particulièrement le lévulose sont détruits en liqueur alcaline. Il est donc important de neutraliser rigoureusement ce liquide avant de le soumettre à l'action de la chaleur. Toutes ces précautions étant prises, on évapore au bain-marie de manière à réduire le volume à 100 centimètres cubes par exemple. C'est dans cette liqueur qu'on dose le sucre. Dans cette expérience j'ai trouvé que le contenu gastrique ne contenait que 0^{gr},285 de glucose (lévulose).

Ce premier résultat permet de faire deux hypothèses :

1^o Ou bien l'inuline renfermée dans les tubercules de topinambours n'a pas été attaquée par le suc gastrique et la petite quantité de sucre trouvée à l'analyse pré-existait dans ces tubercules ;

2^o Ou bien l'inuline a été attaquée par le suc gastrique et alors le sucre, au fur et à mesure des progrès de la saccharification a été déversé dans l'intestin pour y être absorbé.

Il était aisé de savoir laquelle de ces deux hypothèses correspondait à la réalité. Pour cela il suffisait de reprendre le résidu de l'ébullition en liqueur neutre du contenu gastrique et de rechercher si ce résidu contenait encore de notables proportions d'inuline.

A cet effet, on délaye le résidu dans suffisante quantité d'eau de manière à obtenir une bouillie claire ; on acidule

franchement au moyen d'acide sulfurique étendu et on fait bouillir pendant une demi-heure en ayant soin d'ajouter de l'eau au fur et à mesure de l'évaporation. Après ébullition d'une demi-heure on laisse refroidir le liquide, on passe à travers un linge et on exprime le résidu. Ce résidu est repris par une petite quantité d'eau acidulée et bouillante; on passe de nouveau, on exprime une seconde fois le résidu et on réunit les deux liquides. On obtient ainsi une liqueur extrêmement acide qu'on neutralise au moyen du carbonate de soude. On défèque au moyen du sous-acétate de plomb. On filtre, on se débarrasse de l'excès de plomb (1) au moyen du carbonate de sodium, on filtre de nouveau et on obtient enfin une liqueur qui doit contenir le sucre provenant de la saccharification de l'inuline, si cet hydrate de carbone existait encore dans le contenu stomacal examiné. Or, l'analyse a montré que ce liquide ne contenait que 0^{gr},375 de glucose (lévulose) c'est-à-dire une quantité de sucre qui ne correspond même pas à la saccharification de 0^{gr},50 d'inuline.

C'est donc la deuxième hypothèse qui correspond ou qui paraît correspondre à la réalité des faits.

Je dis que cette hypothèse pourrait ne correspondre qu'en apparence à la réalité, pour aller au-devant d'une objection qu'on pourrait faire à une affirmation trop

(1) Il faut naturellement ajouter ici une assez grande quantité de sous-acétate de plomb en raison de la présence d'une quantité notable de sulfate de soude dans la liqueur. Le premier précipité est constitué par du sulfate de plomb et ce n'est qu'après la précipitation totale de l'acide sulfurique que le sous-acétate précipite les matières albuminoïdes dont on veut se débarrasser.

absolue de la signification de l'expérience précédente. Cette objection vient précisément de la rapidité presque trop grande avec laquelle l'inuline disparaît du contenu stomacal.

Les matériaux que j'ai analysés avaient en somme séjourné dans l'estomac pendant 8 ou 9 heures au maximum et on peut être surpris que pendant ce temps assez court le suc gastrique ait pu saccharifier une quantité relativement énorme d'inuline alors que, *in vitro*, des solutions d'acide chlorhydrique à 20 pour 100 n'arrivent pas en 24 heures et même en 30 heures à saccharifier les quantités faibles d'inuline mise en expérience.

En vérité, je considère que cette objection n'a pas une très grande valeur. On ne saurait trop répéter en effet qu'il est impossible d'établir une commune mesure entre les phénomènes chimiques observés *in vitro* et les phénomènes chimico-physiologiques correspondants. Quand on abandonne à l'étuve, dans un ballon, une solution acide d'inuline telle que l'acidité de la solution corresponde à 0,20 pour 100 d'acide chlorhydrique, cet acide ne se renouvelle pas et le ou les produits de dédoublement de l'inuline s'accumulent dans la solution. Quant au contraire, de l'inuline arrive dans l'estomac, il y a dans cet estomac un renouvellement pour ainsi dire incessant de la sécrétion acide et le ou les produits de dédoublement sont sans doute versés dans l'intestin au fur et à mesure de leur formation. Mais une seconde objection qui serait beaucoup plus grave si je n'avais antérieurement observé des faits qui paraissent en désaccord avec l'hypothèse qu'elle soulève, est la suivante :

Dans les végétaux inulacés, dans le dahlia, dans le topinambour, l'inuline ne se rencontre pas sous une forme concrète, elle est en dissolution dans le suc cellulaire et pour la mettre en évidence dans les cellules il est nécessaire d'employer certains artifices de préparation. Cette inuline dissoute a peut-être des propriétés physico-chimiques différentes de celles de l'inuline précipitée; elle est peut-être, notamment, plus diffusible et plus assimilable que cette dernière. Il est donc possible que la mastication, qui consiste essentiellement en somme dans une division mécanique des cellules du tubercule ait simplement pour effet de mettre le suc cellulaire en liberté, sans précipitation de l'inuline dissoute. Celle-ci arrivant dans l'estomac sous forme de solution n'y séjournerait que peu de temps et passerait directement dans l'intestin où elle serait absorbée sous sa forme actuelle. L'estomac ne retiendrait donc que la partie cellulosique des tubercules de topinambours et c'est pour cette raison que la recherche de l'inuline dans le contenu gastrique donnerait des résultats négatifs.

A cette objection on peut répondre que, s'il n'est pas impossible, s'il est certain même que l'inuline naturellement dissoute possède des propriétés physico-chimiques différentes de celles de l'inuline précipitée, il est beaucoup moins certain qu'elle possède des propriétés physiologiques différentes. Tout porte à croire au contraire qu'il n'en est rien. Il est certain par exemple qu'elle n'est pas directement assimilable par les végétaux puisque, malgré que chez ces végétaux elle soit dissoute dans le suc cellulaire, ceux-ci, au moment de la germi-

nation, secrètent une diastase destinée à la transformer en lévulose.

Donc, en se basant, d'une part sur ce que, injectée directement dans le sang, l'inuline se retrouve en grande partie dans les urines et d'autre part sur ce que, même dissoute dans le suc cellulaire, l'inuline n'est pas directement assimilable par les végétaux, on doit admettre que cet hydrate de carbone n'est pas non plus directement assimilable par l'organisme animal. Comme d'ailleurs on ne rencontre pas d'inulase dans l'appareil digestif des animaux et que d'autre part les acides étendus saccharifient l'inuline avec une grande facilité, on doit admettre que chez les animaux le suc gastrique est l'agent physiologique normal de la saccharification de l'inuline.

CHAPITRE III

Influence du régime inulacé sur les variations quantitatives ou qualitatives du sucre ou du glycogène.

Bien que, dans l'ordre des phénomènes de la nutrition, la fonction glycogénique soit l'une des plus importantes sinon la plus importante des fonctions physiologiques, elle n'est pas encore connue d'une manière précise. On peut dire, je crois, qu'elle est encore aujourd'hui, à peu de chose près, au point où si rapidement et si génialement Claude Bernard l'avait portée. Je n'ai pas à faire ici un historique complet de cette question. Cependant afin de préciser le but que je me suis proposé d'atteindre par les expériences que je ferai connaître dans un instant, il me paraît indispensable de rappeler quelques points essentiels de cette importante question. La véritable découverte de la fonction glycogénique date de 1855. Le 24 Septembre 1855, Claude Bernard communiquait en effet à l'Académie des sciences la célèbre expérience du foie lavé, qui démontrait qu'après la mort, sur un foie lavé par un courant d'eau et dépourvu de sucre, on voyait le sucre se reproduire. Claude Bernard en tirait la conclusion qu'une matière préexistait au sucre dans le tissu hépatique. Bientôt il isolait cette substance qu'il

appelait matière glycogène et à laquelle il reconnut la même composition qu'à la matière amylacée des végétaux.

Laissons de côté les controverses soulevées à propos de cette grande découverte puisque, aussi bien, elles devaient bientôt s'éteindre sous l'accumulation des faits expérimentaux si rigoureux apportés par Claude Bernard, et arrivons à la question capitale qui se posait dès lors, à savoir : quelles influences régit la production du glycogène ? Comment cette matière se forme-t-elle ?

Claude Bernard chercha d'abord à savoir si l'alimentation avait une influence déterminée sur la formation du glycogène dans le foie. Si, comme le faisait remarquer Claude Bernard, il eût été possible, à un moment donné, de faire disparaître complètement le glycogène du tissu hépatique, la solution du problème aurait été beaucoup simplifiée. En variant les régimes qu'on peut imposer à un animal et en analysant dans chaque cas le sang et le tissu hépatique, on aurait pu obtenir des renseignements précis. Mais il n'en est malheureusement pas ainsi, et même par une abstinence prolongée, on ne parvient pas à débarrasser complètement le foie du glycogène qu'il contient à un moment donné. Néanmoins on peut par ce procédé obtenir le sens général du phénomène.

C'est en opérant ainsi que Claude Bernard put voir tout d'abord que le foie paraît plus chargé de glycogène lorsqu'on nourrit l'animal avec des matières féculentes et sucrées. Toutefois il ne tarda pas à voir que le glycogène pouvait se former et se formait effectivement dans l'organisme des animaux en dehors de l'intervention des ma-

tières amylacées ou sucrées de l'alimentation et qu'il dérivait aussi des matières azotées. Il donna d'ailleurs de la possibilité de la transformation des matières azotées en glycogène une preuve décisive en faisant voir que si l'on prend des œufs de mouches et qu'on les dépose sur de la viande dont il est impossible d'extraire la moindre trace de matière glycogène ou de sucre, on voit les vers qui naissent des œufs de mouches et qui se nourrissent de cette viande former dans leur corps une grande quantité d'amidon animal qu'on peut facilement extraire.

D'ailleurs, les travaux les plus récents sur la constitution des matières albuminoïdes nous aident singulièrement à comprendre comment une matière hydrocarbonée telle que le glycogène peut prendre naissance aux dépens des matières albuminoïdes. Sans entrer ici dans l'exposé des travaux auxquels je fais allusion, je rappellerai qu'il ressort de ces travaux que les albumines proprement dites, celles de l'œuf, du sang, du muscle, résulteraient de substitutions variées sur un noyau « protaminique » fondamental, noyau protamimique qui, en se dédoublant par hydratation, donnerait des corps amidés, tels que la tyrosine, des leucines, des leucéines, en même temps que des bases contenant 6 atomes de carbone et qu'on désigne sous le nom de bases hexoniques. Et ces bases hexoniques se transformeraient dans l'organisme en les hexoses correspondantes, telles que le glucose par exemple. Cohn (1) a d'ailleurs établi ré-

(1) KOHN. *Zeitsch. f. physiol. Chem.*, t. XXVIII, p. 211.

cemment par des expériences effectuées sur le chien, que l'ingestion de leucine augmente notablement le glycogène du foie. On conçoit d'ailleurs que pour passer de la leucine au sucre il ne soit point besoin de synthèse très compliquée. En rapprochant les deux formules on voit en effet que pour passer de la leucine au sucre il suffit :

- 1° Du départ du groupe amidogène ;
- 2° D'une réduction convenable de la fonction acide ;
- 3° D'une oxydation ménagée des groupes CH^3 et CH^2 .

$\text{CH}^3 - \text{CH}^2 - \text{CH}^2 - \text{CH}^2 - \text{CH} - \text{AzH}^2 - \text{COOH}$ leucine.
 $\text{CH}^2.\text{OH} - \text{CH}.\text{OH} - \text{CH}.\text{OH} - \text{CH}.\text{OH} - \text{CH}.\text{OH} - \text{CHO}$ glucose.

J'ajouterai d'ailleurs que la production *in vitro* des matières sucrées aux dépens des albuminoïdes semble nettement établie par les recherches récentes de Blumenthal (1), de Mayer (2) et de Salkowski (3).

Voici donc en somme que, dans tous les cas, c'est la matière sucrée qui définitivement donne naissance au glycogène et que, comme le pensait Claude Bernard, le foie nous apparaît à la fois comme un organe de synthèse partielle et comme un organe de dédoublement. Comment se fait cette transformation du sucre en glycogène ? Quel est le mécanisme intime de cette transformation ? On n'en sait rien. Mais sans aller jusque-là on peut se poser la question de savoir si les sucres, en

(1) BLUMENTHAL. *C. R. Acad. des Sciences*, t. CXXVIII, p. 117.

(2) MAYER. *Deutsch. med. Woch.*, t. XXV, p. 95.

(3) SALKOWSKI. *J. physiol. Chem.*, t. XXVII, p. 305.

somme très nombreux qui font ou qui peuvent faire partie de l'alimentation des animaux, aboutissent tous à un seul et même glycogène. Si la conversion du sucre en glycogène est directe, si cette conversion a surtout pour but de conserver la substance jusqu'au moment de son utilisation, il est vraisemblable que, ce moment venu, la substance reprendra sa forme première, qu'elle repassera, dans un ordre inverse pour la série des modifications qu'elle a subies pour arriver au terme glycogène. Dans ce cas on ne conçoit pas qu'il n'y ait qu'un seul glycogène doué de propriétés physico-chimiques invariables.

L'attention de Claude Bernard avait naturellement été attirée sur ce point et il avait posé le problème à résoudre sous la forme suivante : « La matière glycogène formée en plus grande abondance dans le foie sous l'influence de l'alimentation sucrée est-elle le résultat d'une *conversion directe*, par voie régressive, du sucre en glycogène, ou bien le sucre ne jouerait-il là que le rôle d'un excitant nutritif puissant qui exagérerait singulièrement la fonction glycogénique du foie (1). » Comme on le voit, c'était plutôt un problème physiologique qu'un problème chimique qu'il se posait ; c'était pour mieux dire un problème physiologique qu'il essaya de résoudre chimiquement.

Pour cela, il avait nourri des lapins pendant un certain temps avec de la betterave et il avait même ajouté

(1) CL. BERNARD, Leçons sur le diabète, p. 321.

à ce régime des ingestions stomacales de saccharose. Il pensait dès lors qu'il trouverait dans le foie du glycogène convertible en sucre interverti, déviant à gauche au lieu de dévier à droite. Le résultat ne répondit pas à son attente : le sucre du foie déviait fortement à droite et ne trahissait par aucun indice une source présumée de saccharose. On pourrait, dit-il, continuer les mêmes expériences avec des topinambours dont la matière féculente (inuline) donne un sucre déviant à gauche. Toutefois il ne poussa pas plus loin ses investigations à ce point de vue particulier. D'ailleurs il ne voulut pas dans une question aussi fondamentale tirer une conclusion absolue des expériences qu'il avait faites. « On voit, dit-il, que le phénomène n'est pas aussi simple qu'il le paraissait. Le fait indubitable, c'est que l'ingestion de sucre de canne augmente considérablement le contenu glycogénique du foie ; mais comment le sucre agit-il dans ce cas, comme excitant nutritif ou comme principe directement transformable en glycogène ? Je penche, je dois le dire, pour la première opinion jusqu'à plus ample informé. » Il faut dire qu'à l'époque où Claude Bernard s'occupait de cette importante question, la chimie organique en général et la chimie des matières sucrées en particulier n'avaient pas atteint le développement qu'elles ont acquis de nos jours. Les beaux travaux de Fischer sur la constitution et la synthèse des sucres ne sont pas seulement importants au point de vue de la chimie pure ; ils le sont également au point de vue physiologique. Ils ont ouvert à l'esprit des horizons nouveaux, ils ont suscité des hypothèses dont

quelques-unes ont déjà été vérifiées par l'expérimentation ; pour ma part je crois qu'ils sont la base sur laquelle on devra s'appuyer pour aborder utilement certain problème de biologie générale. Je reviendrai dans quelques instants sur ce dernier point.

Quoi qu'il en soit, depuis les recherches de Claude Bernard, un nombre considérable de travaux ont été publiés sur le glycogène. Mais il semble que les auteurs se soient surtout préoccupés de rechercher l'influence des différentes matières sucrées sur la formation du glycogène et c'est ainsi qu'on sait aujourd'hui que non seulement l'albumine mais encore les matières hydrocarbonées les plus variables, amidon, saccharose, raffinose, maltose, iso-maltose, glucose, fructose, amènent la formation de glycogène dans le foie (1).

Pour ce qui est de savoir s'il existe un ou plusieurs glycogènes, les auteurs les plus autorisés ne parlent généralement que d'un seul glycogène. Toutefois les très récents travaux de M. Armand Gauthier (2) semblent indiquer que les substances confondues sous le nom de glycogène diffèrent non seulement quand on les extrait d'organes différents, fait déjà reconnu en partie, mais encore quand on les retire d'un même organe dans les diverses espèces animales.

Sans prétendre apporter à l'étude de cette question des documents définitifs, j'ai pensé qu'il y aurait intérêt

(1) TOLLENS. Les hydrates de carbone, traduction française de Léon Bourgeois. Paris, 1896.

(2) A. GAUTHIER, *C. R.*, t. CXXIX, p. 701.

à faire connaître les quelques résultats que m'a fournis l'examen du glycogène retiré du foie d'animaux nourris pendant longtemps et exclusivement avec des topinambours.

Influence du régime inulacé sur les variations quantitatives du glycogène.

Mes premières expériences ont porté sur le chien dont j'ai parlé précédemment et qui du 20 novembre au 11 décembre avait reçu comme nourriture uniquement des topinambours cuits et du 11 décembre au 18 février des topinambours cuits additionnés d'un peu de graisse.

Je fis chez cet animal le dosage du glycogène dans le foie et dans les muscles de la cuisse. Pour faire ce dosage j'ai employé le procédé extrêmement commode et sûr indiqué par M. A. Gauthier (1). Je n'entrerai pas ici dans le détail de ce procédé qui a été publié par M. Gauthier et je me bornerai à faire connaître les résultats obtenus. J'ai trouvé ainsi que le foie contenait, pour 1000, 5,75 et les muscles 2,88 seulement de glycogène. Ce sont là, comme on voit, des chiffres extrêmement faibles. Faut-il conclure de cette expérience que les matières inulacées ne contribuent que faiblement ou point à la formation du glycogène. Pas le moins du monde. En effet, le chien étant un carnivore, dès qu'on le soumet

(1) A. GAUTHIER. *Loc. cit.*

exclusivement à un régime inulacé on le place dans des conditions physiologiques spéciales au point de vue de la nutrition, dans des conditions si défectueuses qu'il ne pourrait s'y maintenir au delà d'un certain temps relativement court. Mais ces chiffres sont précisément intéressants à ce point de vue particulier, car il est bien évident que la richesse des organes et spécialement du foie en glycogène traduit dans une certaine mesure l'état de la nutrition. Or ces chiffres nous montrent précisément l'état de déchéance physiologique auquel aboutit un animal carnivore lorsqu'il est soumis pendant un certain temps à un régime à peu près exclusivement végétal.

Pour savoir vraiment dans quelle mesure l'inuline influait sur les variations quantitatives du glycogène dans le foie il fallait s'adresser à un animal herbivore. Le lapin, bien qu'il ne soit certainement pas l'animal de choix pour des expériences de cette nature, est le seul animal qui, dans un laboratoire ordinaire, se prête bien à ces expériences. Les résultats que je vais faire connaître ont été obtenus sur un animal préalablement mis à jeûner pendant trois jours et qui a reçu ensuite, pendant 29 jours consécutifs, des topinambours comme unique nourriture. Le foie de cet animal pesait 85 grammes. Il a été traité pour l'obtention du glycogène par la méthode de M. Gauthier. Le dosage a donné dans ces conditions 2,144 de glycogène soit 26,80 pour 1000 de tissu hépatique ; c'est comme on voit un chiffre normal.

Examen des propriétés de ce glycogène. — Le glycogène que j'avais obtenu avec le foie ou les muscles du chien était en trop petite quantité pour permettre un

examen qualitatif utile. Il n'en était pas de même de celui obtenu avec le foie du lapin dont il vient d'être question, et j'ai pu déterminer quelques chiffres intéressants. La substance, après lavage à l'alcool à 40 pour 100 d'abord, puis à 90 pour 100 et finalement à l'alcool mélangé d'éther a été mis à sécher dans le vide sulfurique pendant 14 heures. Elle pesait à ce moment 2^{gr},259. Portée à l'étuve à 110° pendant 6 heures et pesée de nouveau après refroidissement sous une cloche en présence d'acide sulfurique, elle ne pèse plus que 2^{gr},144. Elle a donc perdu dans ces conditions 0^{gr},115 d'eau, soit 5,41 pour 100. Elle ne noircit pas par l'hydrogène sulfuré ; fondue avec de la potasse elle ne dégage pas sensiblement d'odeur d'ammoniaque. C'est donc un corps pur en apparence, tout au moins il ne contient pas de mercure ni de trace sensible d'azote.

Ce glycogène chauffé pendant 3 heures à 100° avec de l'acide acétique à 5 pour 100 n'est pas hydrolysé. Chauffé pendant 6 heures à 115°-120° en solution acidulée par l'acide sulfurique à 3 pour 100 il est hydrolysé. Si on mesure le pouvoir réducteur de la solution obtenue on constate que 1 gramme de glycogène a donné un poids de sucre réducteur équivalent à 1,12 de glucose.

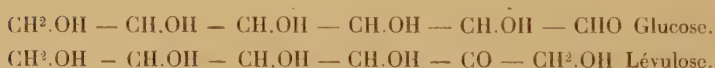
La question importante qui se posait ici était de savoir si le sucre réducteur formé aux dépens de ce glycogène était du glucose ou du lévulose. L'examen optique a montré que c'était du glucose. En présence de ce résultat on se demande ce que devient le lévulose formé dans l'intestin par la saccharification de l'inuline.

Au premier abord, il semble difficile d'admettre que

ce lévulose ait pu, sous sa forme actuelle, servir à la formation d'un glycogène donnant par hydrolise un sucre droit. Quelle est donc sa destinée dans l'organisme? On ne saurait quant à présent répondre à cette question d'une façon satisfaisante. Dans cet ordre d'idées on ne peut faire que des hypothèses.

En ce qui concerne la transformation possible du lévulose en un glycogène donnant par hydrolyse un sucre droit, peut-on au moins émettre une hypothèse s'appuyant, du moins en partie, sur certains faits déjà acquis à la science. Il me semble que oui. Cette hypothèse est celle qui consisterait à admettre une transformation préalable du lévulose en glucose.

Théoriquement cette transformation apparaît comme fort simple. Si en effet on met en regard la formule du lévulose et celle du glucose, on voit immédiatement que la transformation du lévulose en glucose consiste dans une réduction du groupement cétonique et dans une oxydation du groupement alcool primaire voisin.



C'est donc une transformation très simple, une transformation qu'on sait réaliser chimiquement *in vitro*, et qui est de l'ordre de celles qui s'accomplissent ou qui peuvent s'accomplir dans l'organisme.

L'existence des oxydases dans l'organisme est en effet parfaitement démontrée aujourd'hui. D'autre part, les travaux de M. A. Gautier ont établi dès 1881 ces

faits importants : 1° Que les cellules de l'organisme animal vivent en partie anaérobiquement et donnent naissance à des substances réductrices ;

2° Que le protoplasma de la plupart des cellules est réducteur et qu'on peut facilement à son contact, durant la vie ou *in vitro*, réduire des solutions étendues d'acide sulfindigotique et de sulfofuchsine, transformer les iodates et les bromates alcalins en iodures et bromures, etc. Les expériences d'Erlich ont mis en évidence que les organes et tissus animaux jouissent d'un pouvoir réducteur inégal vis-à-vis de certaines matières colorantes injectées dans la circulation (bleu d'alizarine, bleu de céruléine). Binz a trouvé que le sang, le suc intestinal et certains organes, surtout le foie, peuvent réduire *in vitro* l'acide arsénique. Enfin plus récemment Abelous et Gérard (1) ont démontré la présence dans un certain nombre d'organes d'un ferment soluble susceptible de réduire les nitrates en nitrites, décolorant le bleu de méthylène et paraissant donner de l'aldéhyde butyrique aux dépens de l'acide butyrique. MM. Abelous et Gérard ont vainement essayé, il est vrai, d'hydrogéner le glucose avec ce ferment et d'obtenir de la mannite, de telle sorte que cette nouvelle diastase apparaît jusqu'ici comme une diastase désoxygénante et non pas comme une diastase hydrogénante. Mais de nouvelles expériences nous apprendront peut-être que cette diastase peut réellement se comporter comme une diastase hydrogénante.

(1) *Journ. Ph. et Ch.* (6), t. X, p. 103 et 169, 1899.

Il est possible que des recherches ultérieures viendront infirmer l'hypothèse que j'émetts ; je la donne simplement parce qu'elle n'est pas invraisemblable et que dans l'état actuel de nos connaissances je ne crois pas que l'on en puisse donner de meilleure.

D'ailleurs j'ai rappelé plus haut que Cohn avait établi récemment par des expériences effectuées sur le chien que l'ingestion de leucine augmente notablement le glycogène du foie. Or, bien que théoriquement le passage de la leucine au sucre n'exige pas une synthèse bien compliquée, elle nécessite cependant des transformations plus profondes que celles qui sont nécessaires pour passer du lévulose au glucose.

Dosage du sucre dans le sang d'animaux soumis à un régime inulacé.

Il eût été intéressant non pas seulement de doser le sucre dans le sang des animaux soumis à un régime inulacé, mais aussi de chercher à déterminer la nature de ce sucre. Malheureusement, pour faire une semblable recherche, il faudrait opérer sur des quantités relativement considérables de sang et il ne m'a pas été possible de faire cette détermination. D'ailleurs, étant donnés les résultats que je viens de faire connaître sur la nature du sucre provenant de l'hydrolyse du glycogène du foie, il est à peu près évident que chez mes animaux, le sucre du sang ne pouvait être que du glucose.

J'ai tenu néanmoins à voir si chez les animaux soumis à ce régime on observait des variations notables dans la

quantité du sucre qu'on trouve normalement dans le sang. Cette quantité n'a comme on sait rien d'invariable; toutefois elle se maintient à peu près constamment, dans les conditions ordinaires de la vie, dans des limites assez étroites.

Pour faire les dosages dont il s'agit, j'ai employé la méthode de Schmidt-Mulheim-Hofmeister, qui de toutes celles que j'ai essayées m'a paru la plus commode. Voici en quoi consiste cette méthode. On prélève 50 grammes de sang au moins, on dilue de dix fois le volume d'eau et l'on chauffe dans une capsule; lorsque les premières vapeurs apparaissent, on ajoute 4 à 5 centimètres cubes d'une solution à 18 pour 100 de perchlorure de fer et 15 centimètres cubes d'une solution à 60 pour 100 d'acétate de sodium, et l'on porte à l'ébullition. La liqueur prend alors une coloration chocolat, et, entre les flocons du précipité le liquide apparaît limpide. On neutralise prudemment à l'aide de carbonate de soude en cristaux jusqu'à ce que la réaction ne soit plus que faiblement acide. On filtre, on presse le précipité, à la main d'abord puis à la presse; on le reprend par de l'eau acidulée; on répète l'extraction à plusieurs reprises; on réunit les différentes liqueurs et on les concentre à un volume déterminé. Enfin on y dose le sucre par la liqueur de Fehling.

Par ce procédé j'ai trouvé dans le sang des différents animaux que j'ai examinés à ce point de vue des quantités de sucre variant entre 1^{gr},24 et 1^{gr},42. Comme on le voit d'après ces chiffres le régime inulacé paraît ne pas modifier la quantité de matière sucrée qu'on rencontre dans le sang.

RÉSUMÉ ET CONCLUSIONS

Je résumerai aussi brièvement que possible les principaux résultats auxquels je suis arrivé dans ce travail :

1° Après avoir établi que l'inulase est un ferment vraiment spécifique, j'ai étudié l'influence exercée par un certain nombre d'agents physiques ou chimiques soit sur la diastase elle-même soit sur la marche du phénomène fermentatif qu'elle détermine ;

2° J'ai montré qu'en dehors d'un certain nombre de champignons inférieurs qui paraissent la sécréter d'une façon normale en même temps que la plupart des autres ferments diastasiques, l'inulase ne paraît exister que chez les végétaux qui renferment de l'inuline comme matière de réserve ; que dans tous les cas, on ne la rencontre dans aucune partie de l'appareil digestif des animaux supérieurs, même après que ces animaux ont été soumis pendant un temps assez long à un régime exclusivement inulacé ;

3° J'ai étudié l'action d'un certain nombre d'acides étendus (minéraux ou organiques) sur l'inuline et fait voir que cet hydrate de carbone était très facilement saccha-

rifié par ces acides et cela dans des conditions de dilution ou de température aussi voisines que possible de celles qui se trouvent réalisées dans l'organisme animal ;

4° En injectant directement dans le sang des solutions d'inuline et en montrant que la plus grande partie de ce corps passait inaltéré dans les urines, j'ai établi que cette substance n'était pas directement assimilable par l'organisme ;

5° En me basant, soit sur des analyses effectuées sur le contenu gastrique après un repas exclusivement inulacé, soit sur des considérations tirées des observations mentionnées plus haut, je suis arrivé à cette conclusion que chez les animaux le suc gastrique est l'agent physiologique normal de la saccharification de l'inuline ;

6° J'ai montré enfin que le régime inulacé ne paraissait pas amener chez les animaux de variations qualitatives ou quantitatives sensibles, soit dans le sucre du sang, soit dans le glycogène du foie. Le glycogène extrait du foie d'animaux soumis pendant plus d'un mois à un régime exclusivement inulacé donne par hydrolise un glucose dextrogyre absolument comme si ces animaux avaient été soumis à un régime herbacé ou amylacé.

De cet ensemble de recherches se dégagent un certain nombre de faits intéressant non seulement l'histoire spéciale de l'inulase, mais aussi la biologie générale. C'est d'abord que chez les êtres vivants, les phénomènes de la nutrition — je veux dire les phénomènes immédiats — ne s'accomplissent pas toujours et nécessairement en vertu d'un processus chimico-physiologique unique ; c'est ensuite que, tandis que chez certains

organismes inférieurs la nature des sécrétions diastasiques paraît étroitement subordonnée à la nature de l'aliment, chez les organismes supérieurs, chez les animaux, l'influence de l'aliment ne paraît pas capable de modifier essentiellement les sécrétions diastasiques.

Après les recherches que je viens d'exposer, le sujet de ce travail n'est certainement pas épuisé. Certaines parties, celles notamment qui ont trait à la destinée du lévulose dans l'organisme mériteraient d'être reprises. Il y a dans cet ordre d'idées, non seulement pour ce qui concerne le lévulose, mais d'autres sucres encore, bien des points obscurs à éclaircir. Mais le sujet est plein de difficultés. Je me propose cependant d'étendre mes recherches dans ce sens et je serais heureux si, après beaucoup d'efforts, je parvenais à élucider dans une certaine mesure quelques points de cette importante question.

DEUXIÈME THÈSE

PROPOSITIONS DONNÉES PAR LA FACULTÉ

Botanique. — *Assimilation de l'azote libre par les végétaux.*

Géologie. — *Bartonien du Bassin de Paris. — Généralités.*

VU ET APPROUVÉ :

Paris, le 23 mai 1900.

Le Doyen de la Faculté des Sciences,

G. DARBOUX.

VU ET PERMIS D'IMPRIMER :

Le Vice-Recteur de l'Académie de Paris,

GRÉARD.



CHARTRES. — IMPRIMERIE DURAND, RUE FULBERT